

**PENGARUH LAMA FERMENTASI AMPAS
PUTAK (*Corypha gebanga*) MENGGUNAKAN
Aspergillus oryzae TERHADAP KONSENTRASI
NH₃, SINTESIS PROTEIN MIKROBA DAN
NILAI ENERGI SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

**Safira Amalina Addini
NIM. 165050109111002**



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH LAMA FERMENTASI AMPAS
PUTAK (*Corypha gebanga*) MENGGUNAKAN
Aspergillus oryzae TERHADAP KONSENTRASI
NH₃, SINTESIS PROTEIN MIKROBA DAN
NILAI ENERGI SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

Safira Amalina Addini

NIM. 165050109111002

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh
gelar sarjana peternakan pada Fakultas Peternakan Universitas
Brawijaya

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH LAMA FERMENTASI AMPAS PUTAK
(*Corypha gebanga*) MENGGUNAKAN *Aspergillus oryzae*
TERHADAP KONSENTRASI NH₃, SINTESIS PROTEIN
MIKROBA DAN NILAI ENERGI SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

Safira Amalina Addini
NIM. 165050109111002

Telah dinyatakan lulus dalam ujian Sarjana
Pada Hari/Tanggal: Selasa, 24 Juli 2018

Pembimbing Utama:

Prof. Dr. Ir. Siti Chuzaemi, MS.

NIP. 19530514 198002 2 001

Dosen Penguji:

Dr. Ir. Marjuki, M.Sc.

NIP. 19630604 198903 1 001

Prof. Dr. Ir. Luqman Hakim, MS.

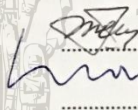
NIP. 19501213 198002 1 002

Tanda Tangan

Tanggal



03/08
2018



03/08
2018

06/08
2018

Mengetahui:

Dekan Fakultas Peternakan

Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS

NIP. 19620403 198701 1 001

Tanggal : 06 - 08 - 2018



RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Sukoharjo, Jawa Tengah pada tanggal 07 Mei 1995. Penulis adalah anak kedua dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Drs. H. Warjito, M.Pd. dan Ibu Dra. Hj. Amin Sarwati, M.Pd. Penulis menempuh pendidikan untuk pertama kalinya di TKIT Az-Zahra Sragen (2000-2001), kemudian melanjutkan di SD Negeri 08 Sragen (2001-2002) dan di SDIT Az-Zahra Sragen (2002-2007). Penulis menempuh pendidikan SMP di SMP Negeri 05 Sragen (2007-2010). Tahun 2010-2013 penulis bersekolah di MA Negeri 1 Surakarta. Tahun 2013 penulis melanjutkan pendidikannya di Universitas Sebelas Maret Surakarta, Fakultas Pertanian program studi Diploma III Agribisnis Minat Peternakan. Penulis menyelesaikan studi selama 3 tahun dengan indeks prestasi memuaskan (terpuji).

Penulis pernah beberapa kali mengikuti kegiatan magang diantaranya CV. Pandawa Kencana Sleman pada tahun 2015 di bagian produksi. Magang di PT. Tossa Shakti Divisi Agro pada tahun 2016 sebagai asisten dokter hewan, asisten pembukuan dan administrasi. Tahun 2016, magang di Kelompok Tani Eko Upoyo Sragen sebagai asisten produksi pakan.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas segala rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “Pengaruh Lama Fermentasi Ampas Putak (*Corypha gebanga*) Menggunakan *Aspergillus oryzae* Terhadap Konsentrasi NH_3 , Sintesis Protein Mikroba dan Nilai Energi Secara *In Vitro*”. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.

Penyelesaian penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan kerjasama berbagai pihak. Untuk itu dalam kesempatan ini, penulis sampaikan terima kasih kepada:

1. Kepada kedua orang tua yang telah memberikan doa, motivasi, dukungan baik secara moril maupun materi sehingga kegiatan penelitian dan penulisan skripsi dapat terlaksana dengan baik.
2. Prof. Dr. Ir. Siti Chuzaemi, MS., selaku pembimbing yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan nasehat dan bimbingan selama proses penulisan skripsi.
3. Dr. Ir. Marjuki, M.Sc. dan Prof. Dr. Ir. Luqman Hakim, MS. selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan demi kebaikan penulisan skripsi.
4. Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS., selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.
5. Dr. Ir. Sri Minarti, MP., selaku Ketua dan Dr. Ir. Imam Thohari, MP., selaku Sekertaris Jurusan Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang yang telah membantu memberikan kemudahan administrasi selama proses skripsi.

6. Dr. Agus Susilo, S.Pt, MP., selaku Ketua Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.
7. Dr.Ir. Mashudi, M.Agr.Sc, selaku Ketua Minat Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.
8. Bapak Sugiyono selaku kepala laboratorium dan Mbak Alik Trisnawati, S.Pt selaku asisten laboratorium Nutrisi Makanan dan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.
9. Teman-teman sekelompok penelitian Asih dan Oktiya, yang telah membantu dan mendukung hingga akhir.
10. Teman-teman seperjuangan yang selalu bersama memberikan dukungan, bantuan, kerja sama dan semangat dari awal hingga akhir.

Penulis menyadari bahwa manusia tidak luput dari kesalahan dan kekurangan. Demikian pula dalam penulisan skripsi ini tidak lepas dari kesalahan dan kekurangan.

Malang, Agustus 2018

Penulis

EFFECT FERMENTATION TIME OF PUTAK DREGS
(*Corypha gebanga*) WITH *Aspergillus oryzae* ON NH₃
CONCENTRATION, MIKROBIAL PROTEIN SYNTHESIS
AND ENERGY VALUE BY IN VITRO

Safira Amalina Addini¹, Siti Chuzaemi²

¹Student of Animal Science Faculty, Brawijaya University

²Lecturer of Animal Science Faculty, Brawijaya University

Email: dinisafaad@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this research was to know the effect of fermentation time and time needed for fermentation putak dregs with *Aspergillus oryzae* to be tested such as NH₃ concentration, microbial protein synthesis and energy value. The methods used for this research was experimental with randomized block design 5 treatments and 3 replications. The treatment of dregs fermentation was P0 (without treatment), P1 (24 hours), P2 (48 hours), P3 (72 hours) and P4 (96 hours). The data were analyzed by Analysis of Variance and if showed significant effect it would be continued by Duncan's Multiple Range Test. The results showed that the duration of fermentation gave significant difference ($P < 0,01$) to NH₃ concentration, biomass, microbial protein synthesis, metabolizable energy value and net energy value. The average of NH₃ concentration of putak fermentation resulting from the research was $38,25 \pm 1,83$ (mM) at P4 and $6,27 \pm 0,12$ (mM) at P0. The average values of biomass and microbial protein synthesis were P4 0.15 ± 0.01 (g/500 mg substrat) and P0 $0,09 \pm 0,005$ (g/500 mg substrat) and P4 $38,51 \pm 1,95$ (g N/kg BOTR) and P0 $18,71 \pm 1.27$ (g N/kg BOTR). Metabolizable energy and net energy values decreased with their respective values of P4 5.54 ± 0.13 (MJ/KgBK) and P0 10.24 ± 0.37 (MJ/KgBK) and P4 $2.90 \pm$

0.10 (MJ/KgBK) and P0 $6,37 \pm 0.27$ (MJ/KgBK). The conclusion of this research was the influence of fermentation duration of putak dregs can gave effect of NH_3 concentration increase and microbial portein synthesis and decrease energy value.

Keywords: putak dregs, NH_3 concentration, microbial protein synthesis, energy value.



**PENGARUH LAMA FERMENTASI AMPAS PUTAK
(*Corypha gebanga*) MENGGUNAKAN *Aspergillus oryzae*
TERHADAP KONSENTRASI NH₃, SINTESIS PROTEIN
MIKROBA DAN NILAI ENERGI SECARA *IN VITRO***

Safira Amalina Addini¹, Siti Chuzaemi²

¹Mahasiswa Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya

²Dosen Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya

Email: dinisafaad@gmail.com

RINGKASAN

Putak merupakan isi (empulur) dari batang pohon gawang (*Corypha gebanga*) yang dimanfaatkan masyarakat NTT sebagai sumber pangan, minuman, bahan bangunan dan pakan ternak. Kandungan nutrisi pada putak terdiri dari protein kasar 2,23% dan energi 4210 kkal/kg. Hasil samping dari putak adalah ampas putak yang diperoleh dari perendaman putak sehingga terjadi pemisahan pati dan ampas putak. Upaya yang dapat dilakukan untuk memaksimalkan penggunaan ampas putak sebagai pakan, dapat dilakukan dengan cara pengolahan yang bertujuan untuk meningkatkan kandungan nutrisi. Meningkatkan kandungan nutrisi ampas putak dapat dilakukan dengan cara fermentasi menggunakan *Aspergillus oryzae*. Fermentasi bertujuan untuk membuat pakan yang tadinya sulit dicerna menjadi mudah dicerna, meningkatkan palatabilitas dan meningkatkan kandungan nutrisi seperti PK, BK, BO dan SK dalam suatu bahan. Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi dan lama waktu yang dibutuhkan agar dihasilkan fermentasi ampas putak terbaik menggunakan

Aspergillus oryzae terhadap konsentrasi NH_3 , sintesis protein mikroba dan nilai energi secara *in vitro*.

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 01 April sampai 05 Mei 2018. Pengujian kepadatan populasi *Aspergillus oryzae* dilakukan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Proses fermentasi serta analisis NH_3 dan sintesis protein mikroba secara *in vitro* dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang. Pengambilan cairan rumen dari sapi PFH berfistula rumen dilakukan di Laboratorium Lapang Sumber Sekar Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang. Materi terdiri dari ampas putak yang diperoleh dari Atambua Nusa Tenggara Timur. Metode yang digunakan untuk penelitian ini adalah penelitian di laboratorium dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) 5 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan terdiri dari P0 merupakan ampas putak tanpa perlakuan, P1 merupakan ampas putak + 0,9% *Aspergillus oryzae* (fermentasi 24 jam), P2 merupakan ampas putak + 0,9% *Aspergillus oryzae* (fermentasi 48 jam), P3 merupakan ampas putak + 0,9% *Aspergillus oryzae* (fermentasi 72 jam) dan P4 merupakan ampas putak + 0,9% *Aspergillus oryzae* (fermentasi 96 jam). Variabel yang diamati adalah konsentrasi NH_3 , biomassa mikroba, sintesis protein mikroba dan nilai energi yang terdiri dari Energi Metabolis (EM) dan Energi Neto (EN). Data yang diperoleh dianalisis dengan Analisis Varians dan jika menunjukkan efek yang signifikan akan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fermentasi ampas putak memberikan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap konsentrasi NH_3 , biomassa, sintesis protein mikroba, nilai energi metabolis dan nilai energi neto. Rataan

nilai konsentrasi NH_3 fermentasi ampas putak yang dihasilkan dari penelitian adalah $38,25 \pm 1,83$ (mM) pada P4 dan $6,27 \pm 0,12$ (mM) pada P0. Rata-rata nilai biomassa dan sintesis protein mikroba masing-masing adalah P4 $0,15 \pm 0,01$ (g/500 mg substrat) dan P0 $0,09 \pm 0,005$ (g/500 mg substrat) serta P4 $38,51 \pm 1,95$ (g N/kg BOTR) dan P0 $18,71 \pm 1,27$ (g N/kg BOTR). Energi metabolis dan nilai energi neto mengalami penurunan dengan nilai masing-masing yaitu P4 $5,54 \pm 0,13$ (MJ/KgBK) dan P0 $10,24 \pm 0,37$ (MJ/KgBK) serta P4 $2,90 \pm 0,10$ (MJ/KgBK) dan P0 $6,37 \pm 0,27$ (MJ/KgBK).

Berdasarkan penelitian menunjukkan hasil bahwa lama fermentasi ampas putak menggunakan *Aspergillus oryzae* akan meningkatkan konsentrasi NH_3 , biomassa mikroba dan sintesis protein mikroba, serta menurunkan nilai energi. Saran penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh lama fermentasi ampas putak terhadap konsentrasi VFA kaitannya sebagai sumber energi bagi mikroba rumen dan perlu dilakukannya penelitian secara *in vivo* untuk mengetahui palatabilitas pada ternak.

DAFTAR ISI

Isi	Halaman
RIWAYAT HIDUP	i
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRACT	v
RINGKASAN	vii
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Kerangka Pikir	3
1.6 Hipotesis	6
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Putak (<i>Corypha gebanga</i>)	7
2.2 Ampas Putak	8
2.3 Fermentasi	9
2.4 <i>Aspergillus oryzae</i>	11
2.5 NH ₃ (Amonia).....	13
2.6 Sintesis Protein Mikroba	14
2.7 Energi Metabolis dan Energi Neto	15

BAB III MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	17
3.2 Materi Penelitian.....	17
3.2.1 Bahan Pembuatan Fermentasi Ampas Putak	17
3.2.2 Bahan Analisis NH ₃ dan Sintesis Protein Mikroba secara <i>In Vitro</i>	17
3.2.3 Bahan Kimia yang Digunakan untuk Analisis	18
3.2.4 Alat yang Digunakan untuk Analisis ..	18
3.3 Metode Penelitian	19
3.4 Prosedur Penelitian	19
3.4.1 Pembuatan Ampas Putak Fermentasi..	19
3.4.2 Pengambilan Cairan Rumen	20
3.4.3 Tahapan Penelitian.....	21
3.5 Variabel Penelitian	22
3.5.1 Pengukuran Konsentrasi NH ₃	22
3.5.2 Estimasi Sintesis Protein Mikroba	22
3.5.3 Pengukuran Nilai Energi Metabolis dan Energi Neto	23
3.6 Analisis Data	24
3.7 Batasan Ilmiah	24

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kandungan Nutrien Ampas Putak dan Hasil Fermentasinya	27
4.2 Konsentrasi NH ₃	28
4.3 Sintesis Protein Mikroba.....	30
4.4 Nilai Energi Metabolis dan Energi Neto	32

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35

DAFTAR PUSTAKA	37
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	47
-----------------------	-----------



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Nutrien Ampas Putak dan Hasil Fermentasinya	27
2. Rataan Konsentrasi NH_3 Masing-Masing Perlakuan ...	28
3. Rataan Biomassa (BM) dan Sintesis Protein Mikroba .	30
4. Rataan Nilai Energi Metabolis (EM) dan Energi Neto (EN) Masing-Masing Perlakuan	33



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka Pikir Penelitian	5
2. Prosedur Penelitian	21



DAFTAR LAMPIRAN

Gambar	Halaman
1. Prosedur Penentuan Kadar Bahan Kering, (AOAC, 2005)	47
2. Prosedur Penentuan Kadar Bahan Organik, (AOAC, 2005)	50
3. Prosedur Penentuan Kadar Protein Kasar, (AOAC, 2005)	52
4. Prosedur Penentuan Kadar Serat Kasar, (AOAC, 2005)	55
5. Pengukuran Produksi Gas Secara <i>In Vitro</i> (Makkar <i>et al.</i> , 1995)	58
6. Pengukuran Degradasi Bahan Kering dan Bahan Organik (Close dan Menke, 1986)	61
7. Pengukuran NH ₃ dengan Teknik Mikrodifusi <i>Conway</i> (Conway, 1957)	63
8. Pengukuran Sintesis Protein Mikroba secara <i>In Vitro</i> (Blummel, <i>et al.</i> , 1997).....	65
9. Pembuatan Larutan NDS (<i>Neutral Detergent Solution</i>) (Chuzemi, 1995)	67
10. Data Analisis Konsentrasi (NH ₃) pada Inkubasi 48 jam (mM).....	68
11. Data Analisis Statistik Biomassa Mikroba (g/500 mg substrat).....	71
12. Data Analisis Statistik Sintesis Protein Mikroba (g N/kg BOTR).....	74
13. Data Analisis Statistik Nilai Energi Metabolis (EM) (MJ/KgBK).....	77
14. Data Analisis Statistik Nilai Energi Neto (EN) (MJ/KgBK).....	80
15. Dokumentasi.....	83

DAFTAR SINGKATAN

SPM	: Sintesis Protein Mikroba
EM	: Energi Metabolis
EN	: Energi Neto
BM	: Biomassa
VFA	: <i>Volatile Fatty Acid</i>
NDS	: <i>Neutral Detergent Solution</i>
PK	: Protein Kasar
BK	: Bahan Kering
BO	: Bahan Organik
SK	: Serat Kasar
PFH	: Peranakan <i>Friesian Holstein</i>
pH	: <i>Power of Hydrogen</i>
°C	: Derajat <i>Celcius</i>
ESPM	: Estimasi Sintesis Protein Mikroba
BOTR	: Bahan Organik Tercerna dalam Rumen
RAK	: Rancangan Acak Kelompok
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
kkal	: kilokalori
g	: gram
kg	: kilogram
m	: meter
mM	: milimol
mdpl	: meter Diatas Permukaan Laut
MJ	: <i>Megajoule</i>
KgBK	: Kilogram Bahan Kering
ml	: mililiter
mgBK	: miligram Bahan Kering
mg	: miligram

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Populasi ternak sapi potong di Indonesia pada tahun 2015-2016 mengalami peningkatan dari 15.419.718 ekor naik menjadi 16.092.561 ekor. Potensi peternakan di Nusa Tenggara Timur (NTT) sangat besar yang ditunjukkan oleh populasi ternak sapi potong pada tahun 2016 yaitu 930.997 ekor (Anonymous, 2016). Kondisi alam yang kering (8-9 bulan kering) mengakibatkan kontinuitas ketersediaan pakan sangat fluktuatif sehingga musim sangat mempengaruhi pertumbuhan ternak. Pemenuhan kebutuhan pakan saat musim kemarau dapat dilakukan dengan memaksimalkan sumber pakan lokal.

Putak adalah salah satu pakan lokal. Putak merupakan isi (empulur) dari batang pohon gewang (*Corypha gebanga*) yang dimanfaatkan masyarakat NTT sebagai sumber pangan, minuman, bahan bangunan (rumah, pagar, kandang) dan pakan ternak. Hasil samping dari putak adalah ampas putak yang diperoleh dari perendaman putak sehingga terjadi pemisahan pati dan ampas putak. Ampas putak berpotensi sebagai pakan ternak, karena ketersediaan cukup. Menurut Ginting (2000) melaporkan bahwa kandungan nutrisi pada putak terdiri dari protein kasar 2,23% dan energi 4210 kkal/kg. Penggunaan putak sebagai pakan ternak belum maksimal karena kandungan protein kasar yang rendah, namun kandungan energinya tinggi.

Proses pengolahan perlu dilakukan sebagai upaya untuk meningkatkan kandungan nutrisi ampas putak agar penggunaannya lebih maksimal. Menurut Ghanem, El-Refai and El-Gazaerly (1991) fermentasi adalah salah satu cara yang

banyak dilakukan untuk meningkatkan nilai nutrisi suatu bahan. Penelitian yang telah dilakukan oleh Ginting (2000) diperoleh hasil bahwa fermentasi putak menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dapat meningkatkan kadar protein kasar putak dari 2,23% menjadi 8,94. Menurut Suherman, Suparwi dan Widiyastuti (2013) yang menyatakan bahwa penggunaan *Aspergillus niger* dalam lama fermentasi onggok dengan penambahan urea dan mineral menunjukkan adanya peningkatan rata-rata konsentrasi amonia dari 1,64 mM menjadi 7,7 mM dan 6,82 mM dan 8,74 mM.

Pemanfaatan ampas putak sebagai pakan ternak dapat dimaksimalkan dengan fermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus oryzae*. *Aspergillus oryzae* memiliki kandungan yang hampir sama dengan *Aspergillus niger* yaitu mengandung enzim amilase, glukosidase dan enzim pengurai ikatan karbohidrat kompleks. Penggunaan *Aspergillus oryzae* mampu meningkatkan protein murni dan menurunkan serat kasar (Hanim, Bachrudin dan Agus, 1999). Kapang ini merupakan penghasil enzim protease sebagai pengurai protein menjadi berbagai jenis asam-asam amino (Rahayu, 1991). Ampas putak fermentasi dapat dimanfaatkan sebagai pakan lokal bagi ternak. Penyusunan pakan dengan menggunakan ampas putak fermentasi diharapkan dapat memenuhi kebutuhan nutrisi ternak seperti karbohidrat, protein, serat, lemak, mineral dan vitamin.

Berdasarkan uraian diatas maka perlu adanya penelitian untuk mengetahui pengaruh fermentasi ampas putak menggunakan *Aspergillus oryzae* dengan lama fermentasi yang berbeda terhadap konsentrasi NH_3 , sintesis protein mikroba dan nilai energi menggunakan metode *in vitro*.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh lama fermentasi ampas putak menggunakan *Aspergillus oryzae* terhadap konsentrasi NH_3 , sintesis protein mikroba dan nilai energi secara *in vitro*?
2. Berapa lama waktu yang dibutuhkan agar dihasilkan fermentasi ampas putak terbaik menggunakan *Aspergillus oryzae* terhadap konsentrasi NH_3 , sintesis protein mikroba dan nilai energi secara *in vitro*?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari pelaksanaan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh lama fermentasi ampas putak menggunakan *Aspergillus oryzae* terhadap konsentrasi NH_3 , sintesis protein mikroba dan nilai energi secara *in vitro*.
2. Mengetahui lama waktu yang dibutuhkan agar dihasilkan fermentasi ampas putak terbaik menggunakan *Aspergillus oryzae* terhadap konsentrasi NH_3 , sintesis protein mikroba dan nilai energi secara *in vitro*.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi masyarakat peternakan mengenai lama fermentasi ampas putak terbaik menggunakan *Aspergillus oryzae* guna didapatkan pakan berdaya cerna tinggi.

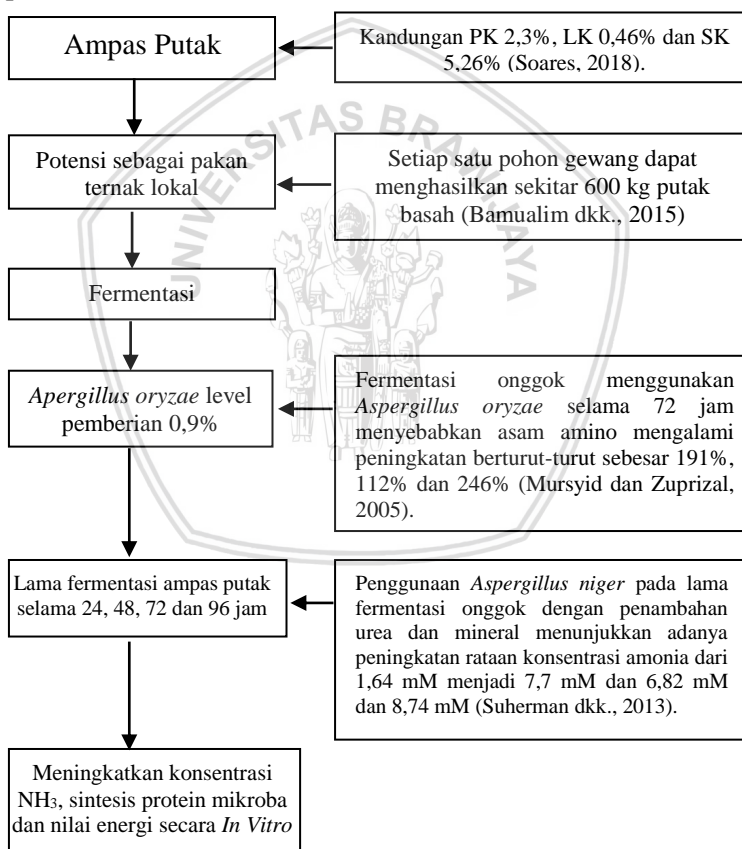
1.5. Kerangka Pikir

Ketersediaan ampas putak yang cukup tinggi dan tidak dimanfaatkan sebagai pangan, dapat dijadikan potensi bahan

pakan ternak yang berperan sebagai sumber energi. Hasil penelitian Soares (2018) menyatakan kandungan ampas putak yaitu BK 86,84%, Abu 3,88%, PK 2,3%, LK 0,46% dan SK 5,26%. Hasil penelitian Bamualim, Kale, Nulik dan Wirdahayati (1993) menunjukkan bahwa pada musim kemarau, bobot ternak di Pulau Timor akan mengalami penyusutan sebanyak 50% dari bobot yang dicapai selama musim hujan. Keadaan demikian diharapkan dapat memaksimalkan sumber pakan lokal merupakan solusi terbaik. Syarat bahan pakan lokal yang dapat dimanfaatkan adalah tidak bersaing dengan kebutuhan manusia, harga murah dan ketersediaannya banyak. Ampas putak memiliki kandungan protein yang rendah, sehingga dilakukannya proses fermentasi untuk meningkatkan nilai nutrisi putak tersebut.

Ampas putak dapat ditingkatkan kandungan nutrisinya dengan cara fermentasi menggunakan *Aspergillus oryzae*. Fermentasi dengan *Aspergillus oryzae* mampu meningkatkan protein murni, menurunkan serat kasar (Hanim, dkk., 1999). Menurut Rapper and Fennel (1977) menambahkan fermentasi dengan *Aspergillus oryzae* dapat menghasilkan beberapa vitamin seperti asam pantotenat, inpsitol, tiamin, piridoksin, biotin dan vitamin B12. Berdasarkan penelitian. Menurut Mursyid dan Zuprizal (2005) fermentasi onggok yang merupakan pakan sumber energi seperti halnya ampas putak yang difermentasi menggunakan *Aspergillus oryzae* selama 72 jam mengakibatkan jumlah 14 asam amino mengalami peningkatan berturut-turut sebesar 191, 112 dan 246%. Menurut Suherman dkk. (2013) yang menyatakan bahwa penggunaan *Aspergillus niger* dalam lama fermentasi onggok dengan penambahan urea dan mineral menunjukkan adanya peningkatan rata-rata konsentrasi amonia dari 1,64 mM menjadi

7,7 mM dan 6,82 mM dan 8,74 mM. Fermentasi ampas putak menggunakan *Aspergillus oryzae* dilakukan dengan lama fermentasi yang berbeda-beda yaitu 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam. Hasil fermentasi ampas putak akan dilakukan pengujian diantaranya konsentrasi NH_3 , sintesis protein mikroba dan nilai energi secara *in vitro*. Sebagaimana telah diuraikan di atas, skema kerangka pikir penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian

1.6. Hipotesis

Penggunaan berbagai lama waktu fermentasi dalam pembuatan ampas putak fermentasi dengan *Aspergillus oryzae* diduga dapat meningkatkan konsentrasi NH_3 , sintesis mikroba dan nilai energi secara *in vitro*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Putak (*Corypha gebanga*)

Putak merupakan nama pakan lokal di daerah Nusa Tenggara Timur yang diperoleh dari empulur batang pohon gewang (*Corypha gebanga*) (Hilakore, Suryahadi, Wiryawan dan Mangunwijaya, 2013). Adapun taksonomi dari pohon gewang adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Liliopsida*
Ordo : *Arecales*
Famili : *Arecaceae*
Genus : *Corypha*
Spesies : *Corypha utan*; *Corypha gebanga*
(Anonymous, 2017)

Putak termasuk dalam jenis pohon pallam-pallaman yang hidup di dataran rendah (± 400 mdpl), dengan ciri-ciri batang besar, lurus dan mampu bertahan saat kekeringan (Hilakore, 2008). Nulik, Fernandez dan Bamualim (1988) menyatakan bahwa, putak memiliki kandungan protein kasar 2,53%, serat kasar 12,04% dan energi 4210 kkal/kg. Ketersediaan putak yang cukup tinggi, satu pohon putak dengan tinggi 13 m ($12,9 \pm 3,3$ m) dapat menghasilkan sebanyak 396 kg berat kering dan tidak digunakan sebagai pangan, sehingga sangat berpotensi sebagai sumber pakan ternak yang mengandung sumber energi tinggi.

Putak dipanen setelah pohon berumur 15-20 tahun, sehingga perlu dilakukan regenerasi tanaman agar populasi tanaman cukup tersedia (Bamualim, Pohan dan Tiro, 2015).

Putak dengan kuantitas dan kualitas yang maksimal harus memperhatikan beberapa hal seperti putak harus dipotong sebelum berbunga, memotong setelah berbunga menyebabkan putak mengandung lebih banyak air dan mengurangi palatabilitas ternak. Pohon putak akan mulai berbunga apabila memiliki daun yang lebih pendek dan daun atas lebih pendek dari pada daun di bawahnya (Ginting, 2000).

Pohon putak memiliki peran penting dalam kehidupan sehari-hari masyarakat di daerah tropis, khususnya Nusa Tenggara Timur. Daun yang lebar, bulat dan kaku, biasa dimanfaatkan untuk kerajinan tangan seperti kipas, keranjang dan sebagai alat musik tradisional dikenal dengan nama sasando. Getah dari bunga bisa digunakan untuk makanan manusia dan hewan. Cabang-cabang pohon muda dapat dijadikan dinding rumah sementara pohon tua untuk membuat kandang ternak. Batangnya digunakan untuk putak (produksi pakan dalam ransum ternak (Bangun, 1989).

2.2. Ampas Putak

Ampas putak diperoleh dari empulur batang pohong gewang yang sudah diambil patinya. Pohon gewang ini adalah jenis tumbuhan yang memiliki berpotensi bagi masyarakat NTT khususnya pulau Timor. Tumbuhan ini berfungsi sebagai sumber pangan, minuman, bahan bangunan serta industri sederhana rumah tangga (Soares, 2018). Pohon gewang memiliki potensi yang besar, setiap pohon dapat menghasilkan sekitar 600 kg putak sebagai pakan. Mengingat pohon gewang sangat potensial untuk pakan ternak maka perlu dilakukan upaya regenerasi tanaman supaya ketersediaannya cukup (Bamualim dkk., 2015).

Menurut Soares (2018) proses pengolahan putak menjadi ampas putak yaitu cacah kecil-kecil putak yang diambil dari batang pohon gewang. Cacahan putak selanjutnya dikeringkan dibawah sinar matahari selama 1-2 hari, kemudian digiling menjadi tepung dan disaring menggunakan kain saring sehingga menjadi tepung halus. Tepung halus putak direndam dengan volume air yang banyak (campuran tidak kental), selanjutnya campuran diaduk sampai warna airnya coklat dan dibiarkan selama kurang lebih 30 menit. Air rendaman dibuang sehingga diperoleh pati dan ampas putak. Kandungan ampas putak diantaranya BK 86,84%, Abu 3,88%, PK 2,3%, LK 0,46% dan SK 5,26% (Soares, 2018).

Serat kasar yang tinggi dan protein kasar yang rendah serta nutrisi lainnya menjadi kendala penggunaan pakan lokal sebagai pakan alternatif yang prospektif. Putak sebagai pakan masih sekedar di berikan pada ternak ruminansia sebagai sumber karbohidrat dan sering dicampurkan dengan urea sebagai sumber nitrogen. Pengolahan sebaiknya dilakukan untuk mengatasi ketersediaan yang dimiliki putak (Hilakore, 2008).

2.3. Fermentasi

Fermentasi merupakan proses terjadinya pemecahan zat-zat organik secara *aerob* atau *anaerob*, peruraian dapat terjadi dari kompleks menjadi sederhana atau sebaliknya dengan bantuan mikroorganisme sehingga menghasilkan energi (Afrianti, 2014). Proses fermentasi terjadi perubahan-perubahan terhadap komposisi kimia, seperti kandungan protein, lemak, karbohidrat, asam amino, vitamin dan mineral sebagai akibat aktivitas dan perkembangbiakan mikroorganisme selama proses fermentasi (Hilakore dkk.,

2013). Aktivitas mikroorganisme saat proses fermentasi dipengaruhi oleh pH, suhu, komposisi zat makanan dan adanya inhibitor (Raudati, Mahakka dan Sahara, 2001).

Proses fermentasi dapat merubah bahan pakan sulit dicerna menjadi lebih mudah, memberikan aroma dan *flavor* yang lebih disukai ternak dan dapat meningkatkan kadar nutriennya (Rachman, 1989). Fermentasi dapat meningkatkan mineral pakan ternak (Adhiansyah, 2014). Penambahan mikroorganisme ke dalam pakan dapat berguna untuk mengawetkan pakan atau yang lebih dikenal dengan proses silase, meningkatkan kualitas pakan yang rendah nilai gizinya dan memperbaiki kondisi rumen. Mikroorganisme yang dimanfaatkan dapat berupa probiotik (bakteri, jamur, khamir atau campurannya) atau dapat berupa produk fermentasi (Wina, 1999).

Alternatif yang dapat digunakan untuk peningkatan mutu bahan pakan adalah teknik fermentasi secara substrat padat. Fermentasi dengan menggunakan kapang memungkinkan terjadinya perombakan komponen bahan yang sulit dicerna menjadi lebih tersedia, sehingga diharapkan pula nilai nutrisinya meningkat (Supriyati, Pasaribu, Hamid dan Sinurat, 1998). Proses fermentasi menggunakan kapang, selain pembentukan miselium selalu diikuti oleh pembentukan spora yang berguna untuk pembuatan inokulum pada proses fermentasi. Inokulum yang berupa spora merupakan starter yang baik dalam fermentasi (Purwadaria, Haryati, Sinurat, Darma and Pasaribu, 1995).

Teknologi fermentasi adalah suatu teknik penyimpanan substrat dengan penanaman mikroorganisme dan penanaman mineral dalam substrat, dimana diinkubasi dalam waktu dan suhu tertentu. Selama inkubasi perlu diperhatikan suhu

ruangan, karena suhu sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroorganisme. Tinggi rendahnya suhu selama inkubasi tergantung jenis mikroorganismenya (Pasaribu, 2007). Semakin lama waktu fermentasi akan menyebabkan kadar keasaman semakin tinggi sehingga pH akan semakin menurun, pH yang semakin rendah akan mengakibatkan mikroorganisme tidak akan bekerja secara optimal (Karlina, 2008). Proses fermentasi selain waktu dan suhu perlu juga diperhatikan kadar air substrat (45-55%) (Supriyanti dkk., 1998), apabila kadar air yang terlalu tinggi atau terlalu rendah kapang tidak dapat tumbuh.

2.4. *Aspergillus oryzae*

Mikroba yang berperan dalam proses fermentasi kapang salah satunya adalah *Aspergillus oryzae*. Djunaidi dan Hardini (2010) mikroba seperti *Bacillus sp.* dan *Aspergillus sp.* adalah jenis mikroba yang bersifat proteolitik karena menghasilkan enzim protease. Menurut Suliantari dan Rahayu (1990) proses fermentasi aktivitas proteolitik kapang menguraikan protein menjadi asam amino, sehingga nitrogen terlarutnya meningkat. *Aspergillus oryzae* dikenal sebagai kapang yang paling banyak menghasilkan enzim, yaitu α -amilase, α -galaktosidase, glutaminase, protease, β -glukosidase (Wedhastri, 1990) dan lipase (Rahayu, Indrati, Utami, Harmayani dan Cahyanto, 1993).

Aspergillus oryzae merupakan salah satu jenis kapang yang banyak dipergunakan dalam industri pembuatan tempe maupun kecap (Mislivec, 2001). Kapang ini merupakan penghasil enzim protease sebagai pengurai protein menjadi berbagai jenis asam-asam amino (Rahayu, 1991). *Aspergillus oryzae* merupakan kapang yang kisaran pertumbuhannya

berkisar pada suhu 20-37°C. Fermentasi onggok menggunakan *Aspergillus oryzae* dalam waktu inkubasi 72 jam dan suhu inkubasi 30°C menunjukkan adanya peningkatan protein dari 2,11% menjadi 6,13% (Mursyid dan Zuprizal, 2005).

Hasil penelitian Soares (2018) terhadap ampas putak yang di fermentasi dengan menggunakan kombinasi kultur *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae* menunjukkan adanya perubahan kualitas substansi yaitu terjadi kenaikan kadar protein terlarut dari 3,29% menjadi 4,99%, kadar abu dari 3,88% menjadi 3,93%, LK dari 0,46% menjadi 0,63% dan terjadi penurunan BK dari 86,84% menjadi 80,27%. Menurut Ginting dan Krisnan, (2006) bahwa perkembangan kapang yang secara konsisten meningkat menurut masa fermentasi dapat menyumbang serat kasar melalui dinding selnya. Lama fermentasi 48 jam terjadi penurunan serat kasar karena adanya enzim selulase yang dihasilkan oleh *Aspergillus oryzae*.

Fase pertumbuhan *Aspergillus oryzae* pada hari pertama adalah fase adaptasi. Hari ke sembilan adalah fase eksponensial yang ditandai dengan banyaknya massa sel *Aspergillus oryzae* yang muncul secara signifikan, yang berarti menunjukkan bahwa pada *range* waktu tersebut terjadi kecepatan pembelahan *Aspergillus oryzae*. Fase eksponensial membutuhkan energi dalam jumlah yang banyak yaitu berupa gula sederhana, sehingga mikroba akan mensekresikan α -amilase yang akan digunakan dalam pemecahan amilosa menjadi gula sederhana yaitu maltosa dalam jumlah yang banyak, hal ini yang mendasari dilakukannya massa panen. Hari ke sepuluh merupakan fase stasioner sampai hari ke dua belas (Jayanti, Wuryanti dan Taslimah, 2013). Aktivitas enzim yang tinggi dihasilkan pada fase pasca eksponensial (Narasimha, Viswanath, Chandra dan Reddy, 2006). Setelah

mengalami pertumbuhan cepat (fase logaritmik), maka laju pertumbuhan menurun mendekati konstan (fase stasioner) (Mursyid dan Zuprizal, 2005). Pertumbuhan kapang yang mencapai fase stasioner menuju kematian dimana nutrisi dalam media sudah habis dan semakin lama kapang akan mati sehingga kapang tidak melakukan penguraian senyawa kompleks menjadi senyawa lebih sederhana yang dapat menghasilkan energi.

2.5. NH_3 (Amonia)

NH_3 (Amonia) erat kaitannya dengan sintesis protein mikroba rumen, sebab mikroba rumen memanfaatkan amonia sebagai sumber nitrogen (N) utama untuk sintesis protein mikroba rumen. Kadar NH_3 merupakan salah satu indikator untuk mengetahui fermentabilitas pakan yang berhubungan dengan pencernaan protein pakan, aktivitas dan populasi mikroba rumen. Konsentrasi NH_3 di dalam rumen sangat penting untuk dikendalikan karena sangat menentukan optimasi pertumbuhan mikroba rumen (Harahap, Mirwandhono dan Hanafi, 2017). Sekitar 80% mikroba rumen dapat menggunakan amonia sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhannya (Arora, 1995).

Menurut McDonald, Edwards, Greenhalgh and Morgan (2002) menyatakan bahwa konsentrasi NH_3 yang optimum untuk perkembangan mikroba rumen membutuhkan NH_3 berkisar antara 6,0-17,65 mM. Pernyataan ini didukung oleh Widyobroto, Padmowiyoto, Utomo dan Adiwimarto (2007) yang menyatakan bahwa bakteri rumen sangat tergantung pada konsentrasi NH_3 , jika konsentrasi NH_3 dalam rumen rendah maka aktivitas bakteri dalam rumen akan terhambat dan akibatnya nilai degradasi pakan akan menurun. NH_3 hasil

fermentasi tidak semuanya disintesis menjadi protein mikro, sebagian akan diserap ke dalam darah. NH_3 yang dikeluarkan melalui urine dan yang lainnya dibawa ke kelenjar saliva (Astuti, Sastradipradja, Kiranadi dan Budiarti, 1993).

Menurut Arora (1995) menyatakan bahwa faktor yang mempengaruhi NH_3 antara lain adalah kelarutan bahan pakan, jumlah protein dalam ransum, sumber nitrogen dalam ransum dan waktu setelah pemberian pakan. Protein pada ternak ruminansia sebagian masuk ke dalam rumen akan mengalami perombakan atau degradasi menjadi NH_3 oleh enzim proteolitik yang dihasilkan oleh mikroba rumen. Menurut Soebarinoto, Chuzaemi dan Mashudi (1991) yang menyatakan bahwa protein yang difermentasi di dalam rumen akan dipecah menjadi peptida dengan bantuan enzim proteolisis. Peptida tersebut sebagian akan digunakan untuk membentuk protein tubuh mikroba dan sebagian untuk dihidrolisis menjadi asam amino, selanjutnya asam amino akan dirombak oleh mikroba rumen menjadi (NH_3), kemudian digunakan untuk menyusun protein tubuhnya.

2.6. Sintesis Protein Mikroba

Sintesis protein mikroba tergantung pada kecepatan pemecahan nitrogen pakan, kecepatan absorpsi NH_3 dan asam amino, kebutuhan mikroba akan asam amino dan jenis fermentasi rumen yang dipengaruhi jenis pakan (Arora, 1995). Sintesis protein mikroba sangat dipengaruhi oleh ketersediaan prekursor NH_3 dan ketersediaan energi hasil fermentasi. Aktivitas proteolitik isi rumen tergantung dari biomassa mikroba yang berhubungan langsung dengan ketersediaan nutrisi atau pencernaan ransum. Kinetika degradasi karbohidrat harus sesuai dengan kecepatan degradasi protein juga sangat

mempengaruhi efisiensi sintesis protein mikroba (Widyobroto, 1992). Menurut Satter dan Slyter (1974) bahwa maksimum laju sintesis protein mikroba akan tercapai jika konsentrasi NH_3 berkisar antara 3,0-8,0 mg/100 ml cairan rumen.

Menurut Chen *et al.*, (1992) menyatakan bahwa ketersediaan pakan yang semakin banyak untuk fermentasi akan memperbanyak produksi biomassa mikroba rumen. Faktor utama yang mempengaruhi sintesis sel-sel mikroba di rumen adalah ketersediaan prekursor dalam cairan rumen yang meliputi glukosa, asam nukleat, asam amino, peptida, NH_3 dan mineral. Menurut Pathak (2008) menyatakan rendahnya jumlah protein mikroba pada ransum berkualitas rendah tidak dapat diselesaikan dengan melengkapi ransum dengan konsentrasi berjumlah banyak. Ransum yang mengandung banyak konsentrat, efisiensi sintesis protein mikroba dalam rumen akan lebih rendah jika dibandingkan dengan ransum yang tersusun oleh hijauan seimbang.

Efisiensi sintesis protein mikroba dipengaruhi oleh kualitas pakan terutama penyediaan bakalan untuk sintesis protein mikroba yaitu NH_3 dan kerangka karbon atau energi (McDonald *et al.*, 2002). Rataan protein mikroba untuk semua bahan pakan pada ruminansia yang terfermentasi di dalam rumen, menghasilkan 15-45 g N/kg BOTR atau rata-rata 30 g N/kg BOTR (ARC, 1984) atau 23,20 g N/kg BOTR (Jarrige, 1989).

2.7. Energi Metabolis dan Energi Neto

Konsumsi energi didefinisikan sebagai jumlah energi yang tersedia dalam suatu bahan pakan yang masuk kedalam sistem pencernaan. Beberapa cara telah dikembangkan untuk menyatakan kandungan energi makanan dan kebutuhan energi

hewan. Penentuan nilai energi yang umum adalah energi bruto (*gross energy/GE*), energi tercerna (*digestible energy/DE*), energi yang dapat dimetabolisme (*metabolizable energy/ME*) dan energi neto (*net energy/NE*). Energi neto ini kemudian digunakan untuk hidup pokok dan produksi (Wahju, 1997).

Energi yang cukup diperlukan untuk pertumbuhan yang normal. Kekurangan energi pada ternak, khususnya ternak dalam masa pertumbuhan akan menghambat pertumbuhan ternak tersebut. Faktor yang mempengaruhi konsumsi energi menurut Wilkinson and Stark (1985) adalah jenis dan kualitas ransum, bobot badan, tingkat produksi dan frekuensi makan. Menurut Parakkasi (1999) menyatakan bahwa selain itu, jumlah konsumsi juga dipengaruhi oleh spesies, umur ternak, lingkungan, sifat fisik dan komposisi bahan makanan.

Menurut McDonald *et al.*, (2002) kebutuhan energi dijadikan standar dalam penyusunan ransum ternak sehingga pengetahuan kandungan energi secara kuantitatif sangat penting. Menurut Anggorodi (1995) menyatakan bahwa zat nutrisi sumber energi adalah karbohidrat berbentuk selulosa, hemiselulosa dan lignin. Energi umumnya dibagi dalam empat bagian yaitu energi bruto, energi dicerna, energi metabolis dan energi neto. Menurut Llyod (1982) menyatakan bahwa energi tercerna dipengaruhi oleh sifat fisik dan kimia bahan makanan, tingkat konsumsi dan spesies ternak. Menurut Parakkasi (1999) energi yang hilang melalui feses dapat dipengaruhi oleh tingkat konsumsi dan kualitas makanan yang besarnya sekitar 20-60%. Selisih antara energi bruto dan energi feses bukanlah jumlah energi yang diserap dalam perut, karena sebagian energi tercerna tersebut akan hilang berupa gas metan (CH_4), CO_2 dan panas, sehingga masih merupakan energi tercerna semu.

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 01 April sampai 05 Mei 2018. Pengujian kepadatan populasi *Aspergillus oryzae* dilakukan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Proses fermentasi serta analisis NH_3 dan sintesis protein mikroba secara *in vitro* dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang. Pengambilan cairan rumen dilakukan di Laboratorium Lapang Sumber Sekar Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Bahan Pembuatan Fermentasi Ampas Putak:

1. Ampas putak diperoleh dari Atambua Nusa Tenggara Timur.
2. *Aspergillus oryzae* diperoleh dari Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak dengan kepadatan populasi $1,9 \times 10^8/\text{g}$.
3. Mineral KH_2PO_4 dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ diperoleh dari CV. Makmur Sejati Malang
4. Urea diperoleh dari CV. Makmur Sejati Malang

3.2.2. Bahan Analisis NH_3 dan Sintesis Protein Mikroba secara *In Vitro*:

1. Cairan rumen untuk produksi gas secara *in vitro* diperoleh dari sapi PFH betina yang berfistula rumen

di Laboratorium Lapang Sumber Sekar Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.

2. Supernatan pengukuran produksi gas *in vitro* inkubasi selama 48 jam digunakan untuk analisis konsentrasi NH_3 dan sintesis protein mikroba secara *in vitro*.

3.2.3. Bahan Kimia yang Digunakan untuk Analisis:

1. Bahan kimia untuk analisis konsentrasi NH_3 secara *in vitro* meliputi Na_2CO_3 jenuh, larutan asam borat (H_3BO_3) 4%, indikator merah metil dan brom kresol hijau, H_2SO_4 0,005 N.
2. Bahan kimia untuk sintesis protein mikroba secara *in vitro* yaitu larutan *Neutral Detergent Solution* (NDS) yang terdiri dari Lauryl sulfat, EDTA, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, *Ethoxy ethanol* dan Na_2SO_3
3. Larutan *Buffer* terdiri dari
 - a. Larutan *buffer* (NaHCO_3 dan NH_4HCO_3)
 - b. Larutan mineral makro (Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , MgSO_4 dan NaCl)
 - c. Larutan mineral mikro ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
 - d. Larutan resazurin
 - e. Larutan reduktor (NaOH 1 N dan $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)

3.2.4. Alat yang Digunakan untuk Analisis

1. Peralatan yang digunakan untuk membuat fermentasi ampas putak meliputi: timbangan, sendok, baskom, plastik (8x12 cm) dan termometer.
2. Peralatan yang digunakan untuk pengambilan cairan rumen meliputi: termos, kain saring dan *sputit*.

3. Peralatan yang digunakan untuk analisis konsentrasi NH_3 secara *in vitro* meliputi: cawan *conway* dan alat titrasi.
4. Peralatan untuk sintesis protein mikroba secara *in vitro* yaitu *syringe* dan *piston*, *beaker glass* serat kasar dan cawan filtasi.

3.3. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian di Laboratorium menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan (Steel dan Torrie, 1993). Pengambilan cairan rumen diulang sebanyak 3 kali dengan berbeda waktu pengambilan sehingga kondisi tidak homogen, maka ulangan sebanyak 3 kali yang dijadikan kelompok.

Perlakuan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

P0 = Ampas Putak tanpa perlakuan

P1 = Ampas Putak+0,9% *Aspergillus oryzae* (fermentasi 24 jam)

P2 = Ampas Putak+0,9% *Aspergillus oryzae* (fermentasi 48 jam)

P3 = Ampas Putak+0,9% *Aspergillus oryzae* (fermentasi 72 jam)

P4 = Ampas Putak+0,9% *Aspergillus oryzae* (fermentasi 96 jam)

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Pembuatan Fermentasi Ampas Putak:

Prosedur pembuatan fermentasi ampas putak sebagai berikut:

1. Ditimbang ampas putak sebanyak 100 g
2. Ditambahkan mineral KH_2PO_4 2 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 4,62 g dan urea 3,15 g dicampur dengan air hingga 100 ml.
3. Dikukus selama 30 menit, setelah itu didinginkan.

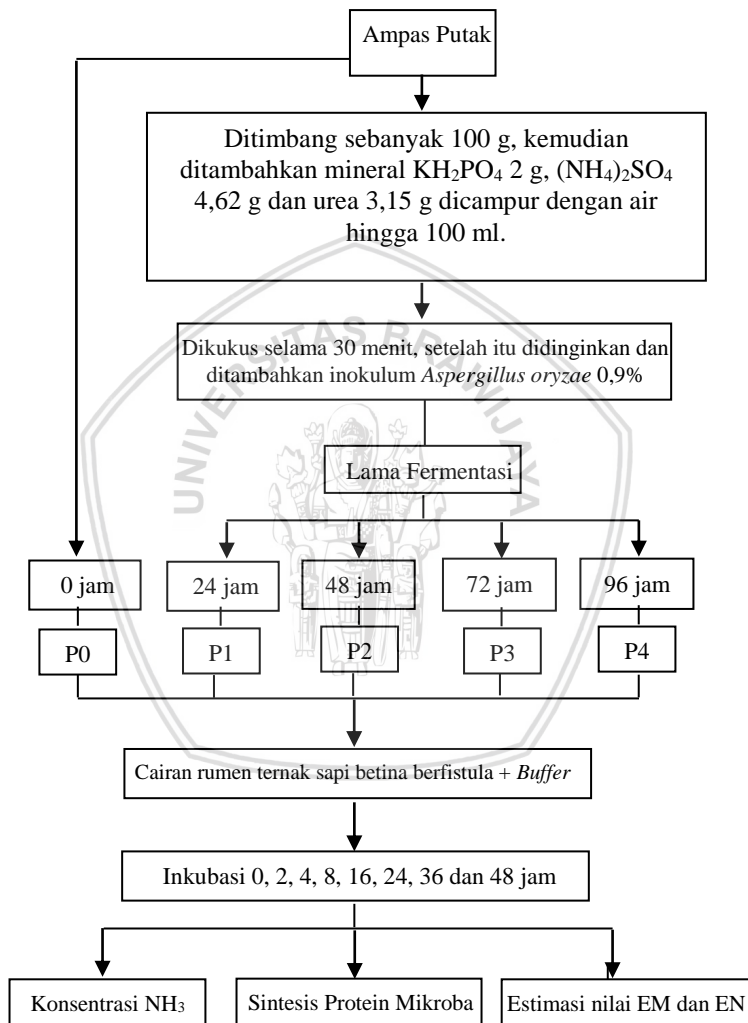
4. Ditambahkan inokulum *Aspergillus oryzae* 0,9%, difermentasikan secara semi *aerob* dengan lama fermentasi berturut-turut 24, 48, 72 dan 96 jam.
5. Dikeringkan pada suhu 60°C untuk digunakan sebagai sampel dalam uji konsentrasi NH_3 dan sintesis protein mikroba secara *in vitro*.

3.4.2. Pengambilan Cairan Rumen:

1. Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan untuk menampung cairan rumen yang diambil 2 jam sebelum ternak diberi pakan.
2. Termos diisi dengan air hangat dengan suhu 39°C.
3. Air dalam termos dibuang dan diganti dengan cairan rumen yang diambil dari fistula rumen menggunakan *sputit* dan ditutup.
4. Termos yang berisi cairan rumen harus segera dibawa ke Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.
5. Cairan rumen kemudian disaring dengan 3 lapis kain saring untuk dilakukan analisis pencernaan produksi gas secara *in vitro*, supernatan hasil pencernaan inkubasi 48 jam tersebut digunakan untuk analisis konsentrasi NH_3 dan sintesis protein mikroba secara *in vitro*.

3.4.3. Tahapan Penelitian

Prosedur penelitian disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Prosedur Penelitian

3.5. Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini terdiri dari:

3.5.1. Pengukuran Konsentrasi NH_3 :

Menggunakan sampel yang berasal dari supernatan pengukuran produksi gas *in vitro* inkubasi selama 48 jam. Analisis NH_3 dilakukan dengan teknik mikrodifusi *conway* (Conway, 1957). Pengukuran konsentrasi NH_3 dilakukan pada 48 jam inkubasi. Prosedur analisis tertera pada Lampiran 2. Rumus perhitungan konsentrasi NH_3 (mM) sebagai berikut:

$$\text{Konsentrasi } \text{NH}_3 \text{ (mM)} = \frac{\text{vol. H}_2\text{SO}_4 \times \text{N H}_2\text{SO}_4 \times 1000}{\text{berat sampel} - \text{BK sampel}}$$

Keterangan:

Vol. H_2SO_4 : volume titrasi H_2SO_4 (ml)

N H_2SO_4 : normalitas H_2SO_4 (0,005 N)

3.5.2. Estimasi Sintesis Protein Mikroba:

Sampel yang digunakan untuk sintesis protein mikroba diambil supernatan pada inkubasi 48 jam dari produksi gas *in vitro*. Prosedur analisis tertera pada Lampiran 3. Estimasi sintesis protein mikroba dihitung dengan rumus (Blummel, Steinges and Becker, 1997) sebagai berikut:

$$\text{ESPM (g N/kg BOTR)} = \frac{\text{biomassa mikroba} \times 0,07 \times 1000}{\text{BOTR}}$$

BOTR = BO sampel x KcBO

Biomassa mikroba = A - B

Keterangan:

ESPM : Estimasi Sintesis Protein Mikroba (g N/kg BOTR)

A : Substrat terdegradasi nyata

: (BK sampel – BK residu setelah refluks)

- B : Substrat terdegradasi semu
 : (BK sampel – BK residu setelah inkubasi 48 jam)
 BOTR : Bahan Organik Tercerna dalam Rumen (g)
 0,07 : Asumsi kandungan N mikroba rumen sebanyak 7 %
 1000 : Konversi 1 kg BOTR

3.5.3. Pengukuran Nilai Energi Metabolis dan Energi Neto:

Perhitungan Energi Metabolis dan Energi Neto dihitung berdasarkan banyaknya gas yang diproduksi pada masa inkubasi 24 jam dengan data analisis proksimat. Rumus perhitungan Nilai Energi Metabolis dan Energi Neto sebagai berikut:

$$EM \text{ (MJ/kg DM)} = 0,157*GP + 0,0084*CP + 0,022*EE + 0,0081*CA + 1,06$$

Keterangan:

- EM : Energi metabolis (MJ/KgBK)
 GP : Produksi Gas 24 jam (ml/200 mg BK)
 CP : Protein Kasar (% BK)
 EE : Lemak Kasar (% BK)
 CA : Abu (% BK)

$$EN \text{ (MJ/kg DM)} = 0,115*GP + 0,0054*CP + 0,014*EE + 0,0054*CA - 0,36$$

Keterangan:

- EN : Energi netto (Mcal/Ib)
 GP : Produksi Gas 24 jam (ml/200 mg BK)
 CP : Protein Kasar (% BK)
 EE : Lemak Kasar (% BK)
 CA : Abu (% BK)

3.6. Analisis Data

Data hasil penelitian dicatat dan ditabulasi menggunakan program excel, kemudian dianalisis menggunakan ANOVA untuk mengevaluasi pengaruh perlakuan terhadap peubah yang diamati. Data dianalisis menggunakan analisis ragam dari Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan model matematika sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \beta_i + \pi_j + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

- Y_{ij} = Nilai Pengamatan perlakuan ke-i, blok ke-j
- μ = Rataan umum
- α_i = Efek perlakuan ke-i
- β_j = Efek blok ke-j
- ε_{ij} = Galat perlakuan ke-i, blok ke-j

Apabila terdapat perbedaan pengaruh diantara perlakuan, dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (Steel dan Torrie, 1993).

3.7. Batasan Istilah

- Aspergillus oryzae* : Mikroorganisme yang memproduksi enzim amilase, lipase dan protease untuk fermentasi makanan, biasanya digunakan dalam pembuatan tempe maupun kecap.
- Putak : Putak merupakan pakan lokal di Nusa Tenggara Timur yang diperoleh dari empulur batang pohon gewang (*Corypha gebanga*)

Ampas putak	: diperoleh dari pemisahan pati dan ampas putak.
<i>In vitro</i> produksi gas	: Pengukuran pencernaan yang dilakukan di dalam laboratorium dengan meniru kondisi alat pencernaan ternak ruminansia.
Lama fermentasi	: Proses pemeliharaan kultur mikroorganisme selama periode tertentu dengan suhu tertentu yang bertujuan untuk memantau perkembangan dan pertumbuhan mikroorganisme.
NH ₃	: Hasil dari perombakan protein di dalam rumen.
Sintesis Protein Mikroba	: Merupakan sumber protein yang penting bagi ternak ruminansia, yang disintesis dari NH ₃ dan karbohidrat hasil metabolisme di dalam rumen.
Energi Metabolis	: Jumlah energi yang dapat dimanfaatkan oleh sel tubuh yang berasal dari energi tercerna.
Energi Netto	: Energi yang digunakan ternak untuk memenuhi kebutuhan hidup pokok dan kebutuhan produksi.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Kandungan Nutrien Ampas Putak dan Hasil Fermentasinya

Ampas putak adalah limbah yang berasal dari isi batang pohong gewang yang telah diambil patinya. Menurut Ginting (2000) kandungan nutrien ampas putak terdiri dari PK 2,23%, SK 12,04% dan energi 4210 kkal/kg. Hasil analisis statistik kandungan nutrien pakan fermentasi ampas putak menggunakan *Aspergillus oryzae* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Nutrien Ampas Putak dan Hasil Fermentasinya.

Perlakuan	BK (%)	BO (%)	PK (%)	SK (%)
P0	87,29 \pm 0,18	94,73 \pm 0,18	2,31 \pm 0,03	7,38 \pm 0,35
P1	46,18 \pm 0,29	92,45 \pm 0,22	16,05 \pm 0,26	8,59 \pm 0,37
P2	38,44 \pm 0,26	89,91 \pm 0,14	21,20 \pm 0,34	15,14 \pm 0,47
P3	33,06 \pm 0,40	88,19 \pm 0,31	24,08 \pm 0,38	19,22 \pm 0,34
P4	27,75 \pm 0,32	86,72 \pm 0,29	27,04 \pm 0,61	17,28 \pm 0,36

Sumber: Hasil Analisis Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan UB (2018)

Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan BK dan BO, masing-masing sebesar 87,29% menjadi 27,75% dan 94,73% menjadi 86,72%. Hal ini disebabkan oleh lama fermentasi ampas putak. Menurut Hilakore (2008) fermentasi putak dengan *Aspergillus niger* menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi akan menurunkan BK dan BO. Kapang akan merombak BO didalam substrat dengan semakin lama fermentasi.

Kandungan PK dan SK mengalami peningkatan, masing-masing sebesar 2,31% menjadi 27,04% dan 7,38% menjadi 17,28%. Hal ini sesuai pendapat Hastuti dkk., (2011) lama fermentasi berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba sehingga jumlah mikroba banyak dan menyebabkan peningkatan jumlah protein. Peningkatan PK juga dipengaruhi oleh penambahan urea sebesar 3,15 g. Urea mengandung sekitar 45% N, sehingga terjadinya peningkatan PK diperoleh dari sumber N bukan protein. Menurut Hilakore (2008) bahwa pertumbuhan kapang ikut menambahkan SK yang berasal dari miselium. Semakin banyak massa sel maka semakin tinggi kadar seratnya.

4.2. Konsentrasi NH_3

Amonia merupakan sumber nitrogen utama untuk sintesis protein mikroba, oleh karena itu konsentrasinya dalam rumen perlu diperhatikan. Produksi NH_3 berasal dari protein dan NPN yang didegradasi oleh enzim proteolitik. Rataan konsentrasi NH_3 masing-masing perlakuan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan Konsentrasi NH_3 pada Inkubasi 48 Jam Masing-Masing Perlakuan

Perlakuan	NH_3 (mM)
P0	6,27 \pm 0,12 ^a
P1	19,06 \pm 0,69 ^b
P2	26,34 \pm 2,61 ^c
P3	35,97 \pm 2,51 ^d
P4	38,25 \pm 1,83 ^d

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fermentasi ampas putak pakan memberikan perbedaan sangat nyata ($P>0,01$) terhadap konsentrasi amonia. Tabel analisis ragam konsentrasi NH_3 yang tertera pada Lampiran 10. Konsentrasi NH_3 pada semua perlakuan berkisar antara 6,27-38,25 mM hasil tersebut optimum untuk perkembangan mikroba rumen. McDonald, *et al.* (2002) menyatakan bahwa konsentrasi amonia yang optimum untuk menunjang sintesis protein mikroba dalam rumen sangat bervariasi, berkisar antara 6-21 mM. Widyobroto *et al.* (2007) menambahkan bahwa bakteri rumen sangat tergantung pada konsentrasi NH_3 , jika konsentrasi NH_3 dalam rumen rendah maka aktivitas bakteri dalam rumen akan terhambat dan akibatnya nilai degradasi pakan akan menurun.

Berdasarkan Tabel 2. dapat diketahui bahwa konsentrasi NH_3 paling tinggi pada perlakuan P4 sebesar 38,25 mM dengan lama fermentasi 96 jam. Hal ini disebabkan oleh semakin lama fermentasi produksi protein biomassa oleh *Aspergillus oryzae* semakin meningkat. Sardjono (2008) berpendapat bahwa protein biomassa mengalami kenaikan sampai fermentasi hari ke lima dan terus mengalami kenaikan walaupun tidak secara signifikan. Konsentrasi NH_3 akan meningkat sejalan dengan meningkatnya kandungan PK. Hal ini sesuai dengan pendapat Hastuti dkk. (2011) bahwa semakin lama fermentasi akan meningkatkan jumlah mikroba sehingga menyebabkan peningkatan jumlah protein kasar. Mikroba yang semakin banyak akan meningkatkan produksi enzim protease. Enzim protease akan mendegradasi protein ampas putak menjadi asam amino, sehingga nitrogen terlarut meningkat dan nilai protein meningkat.

Konsentrasi NH_3 paling rendah pada perlakuan P0 yaitu sebesar 6,27 mM. Hal ini sesuai dengan pendapat Arora (1995) bahwa beberapa faktor yang mempengaruhi produksi amonia antara lain adalah kelarutan bahan pakan, jumlah protein dalam ransum, sumber nitrogen dalam ransum dan waktu setelah pemberian pakan. Hungate (1996) menambahkan bahwa konsentrasi NH_3 dalam rumen dipengaruhi oleh kandungan protein dan asam amino. Amonia terbentuk dari proses deaminasi asam amino oleh aktivitas mikroba sehingga besarnya konsentrasi tersebut dipengaruhi kandungan protein yang dapat dicerna dalam pakan.

4.3. Sintesis Protein Mikroba

Sintesis protein mikroba rumen dipengaruhi oleh konsentrasi NH_3 , semakin tinggi konsentrasi NH_3 maka pertumbuhan mikroba rumen akan cepat sehingga pencernaan pakan juga tinggi. Rataan biomassa dan sintesis protein mikroba masing-masing perlakuan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan Biomassa (BM) dan Sintesis Protein Mikroba (SPM) Masing-Masing Perlakuan

Perlakuan	Biomassa (g/500 mg substrat)	Sintesis Protein Mikroba (g N/kg BOTR)
P0	0,09±0,005 ^a	18,71±1,27 ^a
P1	0,10±0,003 ^b	20,35±0,75 ^b
P2	0,12±0,02 ^c	27,50±4,72 ^c
P3	0,14±0,02 ^d	35,36±5,05 ^d
P4	0,15±0,01 ^e	38,51±1,95 ^e

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$).
: BOTR (Bahan Organik Tercerna dalam Rumen).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fermentasi putak pakan memberikan perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap biomassa mikroba. Biomassa mikroba pada semua perlakuan berkisar antara 0,09-0,15 g/500 mg substrat. Biomassa mikroba berguna sebagai indikator dari banyaknya jumlah mikroba yang terdapat dalam cairan rumen. Suwandi (1997) menyatakan bahwa jumlah dan komposisi dari mikroba rumen bervariasi tergantung pada pakan yang dikonsumsi ternak. Dewhurst, *et al.*, (1986) menambahkan bahwa proses yang dilakukan mikroba di dalam rumen dapat mengubah pakan berserat dan protein berkualitas rendah menjadi nutrisi yang berharga bagi ternak ruminansia.

Peningkatan biomassa mikroba dan sintesis protein mikroba pada P4 masing-masing sebesar 0,15 g/500 mg substrat dan 38,51 g N/kg BOTR, hal ini diduga karena *Aspergillus oryzae* pada hari pertama berada pada fase pertumbuhan (fase adaptasi), hari ketiga merupakan fase eksponensial dan hari keempat merupakan fase stasioner yaitu laju pertumbuhan kapang menuju kematian sehingga jumlah kapang secara keseluruhan tetap. Hal ini sesuai pendapat Sardjono (2008) bahwa fase pertumbuhan kapang *Aspergillus oryzae* yaitu hari pertama merupakan fase adaptasi, hari ketiga adalah fase eksponensial yang ditandai dengan kenaikan massa sel dari *Aspergillus oryzae* secara signifikan. Keadaan ini mengidentifikasi bahwa pada *range* waktu tersebut *Aspergillus oryzae* membelah dengan cepat. Hari keempat merupakan fase stasioner.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fermentasi ampas putak pakan memberikan perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap sintesis protein mikroba. Sintesis protein mikroba yang dihasilkan dari semua perlakuan berkisar antara

18,71-38,51 g N/kg BOTR. Menurut ARC (1984) rata-rata protein mikroba untuk semua bahan pakan pada ruminansia yang terfermentasikan di dalam rumen, menghasilkan 15-45 g N/kg BOTR atau rata-rata 30 g N/kg BOTR. Tabel analisis ragam sintesis protein mikroba tertera pada Lampiran 12.

Tabel 3. menunjukkan bahwa sintesis protein mikroba paling tinggi pada perlakuan P4 yaitu sebesar 38,51 (g N/kg BOTR). Menurut Arora (1995) bahwa sintesis protein mikroba tergantung pada kecepatan pemecahan nitrogen pakan, kecepatan absorpsi amonia dan asam amino, kebutuhan mikroba asam amino dan jenis fermentasi rumen yang dipengaruhi jenis pakan. Menurut Chen *et al.*, (1992) menambahkan bahwa ketersediaan pakan yang semakin banyak untuk fermentasi akan memperbanyak produksi biomassa mikroba rumen. Menurut Preston dan Leng (1987) berpendapat bahwa faktor utama yang mempengaruhi sintesis sel-sel mikroba di rumen adalah ketersediaan prekursor dalam cairan rumen yang meliputi glukosa, asam nukleat, asam amino, peptida, amonia dan mineral.

4.4. Nilai Energi Metabolis dan Energi Neto

Energi merupakan kebutuhan pokok ternak untuk hidup dan memproduksi dengan baik. Hasil analisis statistik energi metabolis (EM) dan energi neto (EN) pakan fermentasi ampas putak menggunakan *Aspergillus oryzae* masing-masing perlakuan disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rataan Nilai Energi Metabolis (EM) dan Energi Neto (EN) Masing-Masing Perlakuan

Perlakuan	EM (MJ/KgBK)	EN (MJ/KgBK)
P0	10,24±0,37 ^d	6,37±0,27 ^d
P1	8,25±0,20 ^c	4,90±0,15 ^c
P2	7,09±0,12 ^b	4,04±0,09 ^b
P3	5,84±0,42 ^a	3,13±0,31 ^a
P4	5,54±0,13 ^a	2,90±0,10 ^a

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan sangat nyata ($P<0,01$).

Hasil analisis nilai energi metabolis menunjukkan bahwa lama fermentasi ampas putak menggunakan *Aspergillus oryzae* menunjukkan bahwa perlakuan tersebut berpengaruh sangat nyata terhadap nilai EM ($P<0,01$). Energi metabolis mengalami penurunan seiring lamanya fermentasi putak yaitu P0 (0 jam) sebesar 10,24 MJ/KgBK menjadi P1 (24 jam) sebesar 8,25 MJ/KgBK menjadi P2 (48 jam) sebesar 7,09 MJ/KgBK menjadi P3 (72 jam) sebesar 5,84 MJ/KgBK menjadi P4 (96 jam) sebesar 5,54 MJ/KgBK. Hasil analisis nilai EM pada pakan perlakuan PO hingga P2 berada pada kisaran 10,24-7,09 MJ/kgBK. Hal ini sesuai dengan pendapat Anonimous (2000) bahwa nilai tersebut telah memenuhi kebutuhan EM untuk pertumbuhan sapi yaitu 7-13 MJ/KgBK. Tingginya nilai EM dipengaruhi oleh energi dalam pakan yang lebih banyak digunakan untuk Sintesis Protein Mikroba. Hal ini dibuktikan dengan tingginya konsentrasi amonia yaitu kisaran 6,27-38,25 mM.

Tabel 4. menunjukkan hasil analisis statistik lama fermentasi ampas putak memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P<0,01$) terhadap nilai energi neto. Nilai tertinggi EN

terdapat pada P0 yaitu sebesar 6,37 MJ/KgBK dan nilai EN terendah terdapat pada P4 yaitu sebesar 2,90 MJ/KgBK. Hal ini sesuai dengan pendapat Anonymous (2000) bahwa nilai tersebut telah memenuhi kebutuhan EN untuk pertumbuhan sapi yaitu 4,89-5,85 MJ/KgBK. Nilai EN dipengaruhi oleh NH_3 dan sintesis protein mikroba yang tinggi, sehingga menurunkan energi. Energi untuk ternak habis digunakan untuk sintesis protein mikroba sehingga nilai EN turun seiring dengan lamanya fermentasi.

Penurunan nilai energi metabolis dan energi neto pada lama fermentasi hari keempat (P4) yaitu sebesar 5,54 MJ/KgBK dan 2,90 MJ/KgBK. Semakin lama fermentasi maka karbohidrat sebagai sumber energi akan semakin banyak digunakan oleh *Aspergillus oryzae*, sehingga semakin lama fermentasi terjadi penurunan nilai energi. Hal ini sesuai pendapat Liyani (2005) bahwa waktu fermentasi yang lebih lama akan menyebabkan komponen (karbon, nitrogen dan mineral) yang digunakan *Aspergillus oryzae* untuk pertumbuhan akan berkurang. Jayanti, dkk. (2013) menambahkan bahwa fase eksponensial membutuhkan energi dalam jumlah yang banyak yaitu berupa gula sederhana, sehingga mikroba akan mensekresi amilase yang akan digunakan dalam pemecahan amilosa menjadi gula sederhana yaitu maltosa dalam jumlah yang banyak.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Lama fermentasi ampas putak menggunakan *Aspergillus oryzae* akan meningkatkan konsentrasi NH_3 dengan konsentrasi tertinggi pada P4 sebesar 38,25 mM, dengan lama fermentasi 96 jam.
2. Lama fermentasi ampas putak menggunakan *Aspergillus oryzae* akan meningkatkan biomassa mikroba dan sintesis protein mikroba dengan nilai tertinggi pada P4 masing-masing sebesar 0,15 g/500 mg dan 38,51 g N/kg BOTR dengan lama fermentasi 96 jam.
3. Lama fermentasi ampas putak menggunakan *Aspergillus oryzae* akan menurunkan Energi Metabolis dan Energi Neto dengan nilai terendah pada P4 masing-masing sebesar 5,54 MJ/KgBK dan 2,90 MJ/KgBK dengan lama fermentasi 96 jam.

5.2. Saran

Saran yang diberikan dari penelitian ini adalah:

1. Penggunaan ampas putak fermentasi menggunakan *Aspergillus oryzae* 0,9% dapat digunakan sebagai pakan sumber protein pengganti dengan lama fermentasi 96 jam.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh lama fermentasi ampas putak (*Corypha gebanga*) terhadap konsentrasi VFA kaitannya sebagai sumber energi bagi mikroba rumen dan perlu

dilakukannya penelitian secara *in vivo* untuk mengetahui palatabilitas pada ternak.



DAFTAR PUSTAKA

- Adhiansyah, R. 2014. Studi pembuatan bahan pakan ternak terfermentasi berbasis kulit ari kedelai (kajian jenis inokulum dan waktu fermentasi). Skripsi. Jurusan Teknologi Industri Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Afrianti, L. H. 2014. Teknologi Pengawetan Pangan. Alfabeta. Bandung.
- Anggorodi, H. R. 1995. Ilmu Nutrisi dan Bahan Makanan Ternak. Gramedia Pustaka. Jakarta.
- Anonimous. 2000. Perhitungan energi ternak ruminansia. Temu teknis fungsional non penelitian.
- _____. 2016. Populasi Sapi Potong menurut Provinsi, 2009-2016. Badan Pusat Statistik. Jakarta.
- _____. 2017. <https://id.wikipedia.org/wiki/Gebang>. Diakses pada tanggal 13 Februari 2017.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis (18 edition) Association of Official Analytical, Chemists International, Maryland, USA.
- ARC. 1984. The Nutrient Requirement of Ruminant Livestock, Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough, England.
- Arora, S. P. 1995. Pencernaan Mikroba pada Ruminansia. Diterjemahkan oleh R. Murwani. Cetakan ke dua. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

- Astuti, D. A., B. Sastradipradja, Kiranadi dan E. Budiarti. 1993. Pengaruh perlakuan jerami jagung dengan asam asetat terhadap metabolisme *in vitro* dan *in vivo* pada kambing laktasi. Laporan Penelitian. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Bamualim, A., A. Pohan dan B. Tiro, 2015. Pertumbuhan Sapi Bali Berbasis Pakan Rumput dan Putak dengan Suplementasi Hijauan Turi dan Urea di Nusa Tenggara Timur. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Bamualim, A., T. J. Kale, J. Nulik dan R. B. Wirdahayati. 1993. Pengaruh suplemen daun kedondong hutan (*Lannea grandis*), turi (*Sesbania grandiflora*), putak (*Corypha gebanga*) dan putak campur urea terhadap pertumbuhan ternak sapi bali di musim kemarau. Publikasi Wilayah Kering. 1:1-5.
- Bangun, J. N. 1989. The Variety og Gewang Growth in East Nusa Tenggara Timur Province. Job Meeting on Development and Siwalan Use on Dry Land, Semi-arid region in NTT Province, Kupang, Timor, 28 Agustus 1989.
- Blummel, M., H. Steinges dan H. Becker. 1997. The Relationship Between *In Vitro* Gas Production, *In Vitro* Microbial Biomass Yield and ^{15}N Incorporation and Its Implications for The Prediction of Voluntary Feed Intake of Roughages. British Journal of Nutrition. 77: 911-921.

- Chen, X. B., Y. B. Chen, Franklin, E. R. Orskov and W. J. Shand. 1992. The effect of intake and body weight on purine derivative excretion and microbial protein supply in sheep. *Journal of Animal Science* 70: 15534-1542.
- Chuzaemi, S. 1995. Teknik Analisis Laboratorium Pakan Ternak. Petunjuk Praktikum. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Close, W dan Menke, K. H. 1986. Selected Topics in Animal Nutrition, A Manual Prepared for The Third Honhenheim Course on Animal Nutrition in The Institute of Animal Nutrition. Hohenheim University.
- Conway, E. J. 1957. Microdiffusion Analysis and Volumetric Error. Crosby Lockwood. London.
- Dewhurst, R. J., A. J. F. Webster, F. W. Wainman and P. J. S. Dewey. 1986. Prediction of the true metabolisable energy concentration in forages for ruminants. *Animal Production*. 43:183-194.
- Djunaidi, I. H. dan D. Hardini. 2010. Kandungan nutrisi dan pencernaan bahan kering *in-vitro* limbah udang hasil fermentasi dengan *Aspergillus oryzae*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 20 (2): 31-35.
- Ghanem, K. M., A. H. El-Refai and M. A. El-Gazaerly. 1991. Protein enriched feedstuff from beet pulp. *World J. Microbil. Biotechnol.* 7: 365-371.

- Ginting, M. U. 2000. The Influence of Fermented Putak in Pig Diets Digestibility and Growth Performance of Weanling Pigs [Disertasi]. Doctoral Dissertation. Institute of Animal Physiology and Animal Nutrition. Georg-August University. Gottingen. Germany.
- Ginting, S. P. dan R. Krisnan. 2006. Pengaruh fermentasi menggunakan beberapa *strain Trichoderma* dan masa inkubasi berbeda terhadap komposisi kimiawi bungkil inti sawit. Seminar Nasional Teknologi. Peternakan dan Veteriner. 1 (2): 939-944.
- Hanim, C., Z. Bachrudin dan A-Agus. 1999. Evaluasi nilai nutrisi bungkil inti kelapa sawit yang difermentasi dengan jamur. Buletin Peternakan 23 (2): 81-87.
- Harahap, N., E. Mirwandhono dan N. D. Hanafi. 2017. uji pencernaan bahan kering, bahan organik, kadar NH_3 dan VFA pada pelepah daun sawit terolah pada sapi secara *in vitro*. Jurnal Peternakan. 1 (1): 13-21.
- Hastuti, D., N. Suliastri dan B. Iskandar. 2011. Pengaruh perlakuan teknologi amofer (amoniasi fermentasi) pada limbah tongkol jagung sebagai alternatif pakan berkualitas ternak ruminansia. Jurnal Mediagro. 7(1): 55-65.
- Hilakore, M. A. 2008. Peningkatan kualitas putak melalui fermentasi campuran *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* sebagai pakan ruminansia. Disertasi Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Hilakore, M. A., Suryahadi, K. Wiryawan dan D. Mangunwijaya. 2013. Peningkatan kadar protein putak melalui fermentasi oleh kapang *Trichoderma reesei*. Jurnal Veteriner 14 (2): 250-254.
- Hungate, R. E. 1996. The Rumen and Its Microbes. Academic Press. New York.
- Jarrige, R. 1989. Ruminant Nutrition-Recommended Allowances and Feed Tables. INRA. John Libbey Eurotex. Paris.
- Jayanti, D., Wuryanti dan Taslimah. 2013. Isolasi, karakteristik dan amobilisasi α -amilase dari *Aspergillus oryzae* FNCC 6004. Jurnal Kimia. 1 (1):76-84.
- Karlina, S. 2008. Pengaruh Fermentasi Ragi Tape dan Lama Fermentasi Terhadap Mutu Tape Ubi Jalar. Skripsi. Universitas Sumatera Utara.
- Liyani, I. 2005. Pengaruh Perbedaan Lama Peran Fermentasi Ampas Sagu (*Metoxylon sp*) Menggunakan *A. niger* Terhadap Komponen Proksimat. Skripsi. Iniversitas Diponegoro. Semarang.
- Llyod, D. 1982. Nutrition and growth mannual. Australian Universities International Development Program (AUIDP), Canberra, Australia. P 21.

- Makkar, H, P, S., Blummel, M dan Becker, K. 1995. Formation of Complexes Between Polyvinyl Pylory Dones on Pholyethylene Glycoles and Tanin an Their Implication in Gas Production and True Digestibility In Vitro Techniques. J. Nut. Brit. 73:893- 913.
- McDonald, P., R. Edwards, J. Greenhalgh and C. Morgan. 2002. Animal Nutrition. 6th Ed. New York: Longman Scientific and Technical.
- Mislivec, P. B. 2001. Training in Mold Isolation, Identification, Handling and Evaluation of Conditions Leading to Mycotoxin Consultant U. S. Food and Drug Administration UNDP/FAO/THA/82/004.pp 1-10.
- Mursyid, A. W. M. dan Zuprizal. 2005. Fermentasi substrat padat pada onggok dengan *Aspergillus oryzae*: evaluasi kandungan protein dan asam amino, pencernaan dan ketersediaan energi pada ayam broiler. Buletin Peternakan 29 (2): 71-78.
- Narasimha, G. S., A. Viswanath, B. S. M. Chandra dan R. B. Reddy. 2006. Nutrien effects on production of cellulolytic enzymes by *Aspergillus niger*. African Journal of Biotechnology 5 (5): 472-476.
- Nulik, J., P. Th. Fernandez dan A. Bamualim. 1988. Pemanfaatan dan produksi putak sebagai sumber energi makanan ternak sapi dan kambing. Laporan Penelitian Komponen Teknologi Peternakan, Main Base Kupang 1987-1988. Proyek NTASP. BPPP Deptan.

- Parakkasi, A. 1999. Ilmu gizi dan makanan ternak monogastrik. Angkasa. Bandung.
- Pasaribu, T. 2007. Produk fermentasi limbah pertanian sebagai bahan pakan unggas di indonesia. Wartazoa 17 (3): 109-116.
- Pathak, A. K. 2008. Various factors Affecting microbial protein synthesis in the rumen. Veterinary World. 1 (6): 186-189.
- Preston, T. R. and R. A. Leng. 1987. Matching Ruminant Production System with Available Resources in the Tropics and Sub-tropics. Penambur Books, Armidale. Australia.
- Purwadaria, T., T. Haryati, A. P. Sinurat, J. Darma and T. Pasaribu. 1995. In Vitro Nutrient Value of Coconut Meal Fermented with *Aspergillus niger* NRRL 337 at different Enzymatic Incubation Temperatures. Second Conference on Agricultural Biotechnology Jakarta. 13-15 June 1995.
- Rachman, A. 1989. Pengantar Teknologi Biodegradasi. PAU Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rahayu, E. S. 1991. Hydrolysis of Soybean Protein by *Aspergillus soyae*, *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus oligosporus*. Agritech. 11 (4): 11-22.
- Rahayu, E. S., R. Indrati, T. Utami, E. Harmayani dan M. N. Cahyanto. 1993. Bahan Pangan Hasil Fermentasi. PAU Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

- Rapper, K. B. and D. I. Fennel. 1977. The Genus *Aspergillus*. Robert, E Krieger Public Co. Huntington. New York.
- Raudati, E., Mahakka dan E. Sahara. 2001. Peningkatan mutu daging biji buah pisang sebagai pakan ternak melalui fermentasi dengan penambahan dedak halus. Jurnal Peternakan dan Lingkungan. 70 (1): 34-46.
- Sardjono. 2008. Kinetika Pertumbuhan *Aspergillus oryzae* KKB4 pada Substrat Padat serta Aktivitas Enzim Kasar Ekstraseluler untuk Mereduksi Alfatoksin B. Agritech 28 (4): 145-150.
- Satter, L. D. and L. L. Slytter. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in *in vitro* br. Journal Nutrition. 32:1999-208.
- Soares, D. 2018. Pengaruh jenis inokulum *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae* dan lama fermentasi terhadap komposisi nutrisi ampas putak (*Corypha gebanga*) dan aplikasinya sebagai pakan ayam pedaging. Tesis. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Soebarinoto, S. Chuzaemi dan Mashudi. 1991. Ilmu Gizi Ruminansia. LUW. Animal Husbandry Project. Universitas Brawijaya. Malang.
- Steel, R. G. dan J. H. Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika, suatu Pendekatan Biometrik. Gramedia Pustaka. Jakarta.

- Suherman, K., Suparwi dan T. Widiyastuti. 2013. Konsentrasi VFA total dan amonia pada onggok yang difermentasi dengan *Aspergillus niger* secara *in vitro*. Jurnal Ilmiah Peternakan. 1(3): 827-834.
- Suliantari dan W. P. Rahayu. 1990. Teknologi Biodegradasi Biji-bijian dan Umbi-umbian. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan dan Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Supriyati, T. Pasaribu, H. Hamid dan A. Sinurat. 1998. Fermentasi bungkil inti sawit secara substrat padat dengan menggunakan *aspergillus niger*. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner 3 (3): 165-170.
- Susanti, E. D. 2015. Nilai zat makanan hasil fermentasi ampas kelapa (*Cocos nucifera* L.) menggunakan *Aspergillus oryzae* dengan waktu inkubasi yang berbeda. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Suwandi. 1997. Peranan Mikroba Rumen pada Ternak Ruminansia. Lokakarya Fungsional Non Penelitian. Balai Penelitian Ternak Ciawi. Bogor.
- Wahju, J. 1997. Ilmu nutrisi unggas. Cetakan ketiga. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Wedhastri, S. 1990. Perilaku *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus soyae*, *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae* pada Kadar Sianogen Biji Koro Benguk (*Mucuna prumens* D. C.). [Tesis]. Pascasarjana. Yogyakarta.

- Widyobroto B. P. 1992. Pengaruh Aras Konsentrat dalam Ransum terhadap Kecernaan dan Sintesis N Mikroba dalam Rumen pada Sapi Perah. Buletin Peternakan.
- Widyobroto, B. P., S. Padmowiyoto, R. Utomo dan K. Adiwimarto. 2007. Pendugaan Kualitas Protein Bahan Pakan. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Wilkinson, J. M. and B. A. Star. 1985. Commercial goat production. Commonwealth Agriculture Bureaux, Unwin Brother Limited, Old Woking, Surrey, England. P 85.
- Wina, E. 1999. Pemanfaatan Ragi (*yeast*) sebagai pakan imbuhan untuk meningkatkan produktivitas ternak ruminansia. Wartazoa 9 (2): 1-8.
- Yohanista, M., O. Sjoftjan dan E. Widodo. 2014. Evaluasi nutrisi campuran onggok dan ampas tahu terfermentasi *Aspergillus niger*, *Rizhopus oligosporus* dan kombinasi sebagai bahan pakan pengganti tepung jagung. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan 24 (2): 72-83.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Penentuan Kadar Bahan Kering (AOAC, 2005)

A. Bahan Kering Udara (60 °C)

Alat dan Bahan

Alat:

1. Loyang
2. Oven 60°C
3. Timbangan

Bahan:

Tidak ada reagen, sampel

Prosedur:

1. Ditimbang loyang kosong (berat A).
2. Dimasukkan sampel fermentasi ke dalam loyang, kemudian ditimbang (berat B).
3. Dioven sampel fermentasi dan loyang ke dalam oven 60°C.
4. Diambil dan didinginkan sampel kurang lebih 1 jam.
5. Ditimbang sampel fermentasi dan loyang setelah oven 60°C (berat C).

Perhitungan:

$$\text{Bahan Kering (BK) Udara} = \frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan:

- A = berat loyang (g)
B = berat loyang dan sampel sebelum dioven (g)
C = berat loyang dan sampel setelah dioven (g)

B. Bahan Kering (105 °C)

Prinsip:

Pada pemanasan 105°C, air yang terkandung dalam suatu bahan pakan akan menguap seluruhnya. Bahan yang tertinggal setelah penguapan air disebut bahan kering.

Alat dan Bahan:

Alat:

4. Cawan porselin
5. Oven 105°C
6. Eksikator
7. Penjepit
8. Timbangan analitis

Bahan:

Tidak ada reagen, sampel

Prosedur:

1. Cawan porselin dimasukkan ke dalam oven 105°C selama 1 jam.
2. Cawan diambil dan dimasukkan ke dalam eksikator (menggunakan tang penjepit) selama 1 jam dan ditimbang (berat A).
3. Sampel sebanyak ± 3 g dimasukkan ke dalam cawan porselin dan ditimbang (berat B). Cawan yang berisi sampel dimasukkan ke dalam oven 105°C selama 4 jam.
4. Cawan diambil, dimasukkan ke dalam eksikator selama 1 jam dan ditimbang (berat C).

Perhitungan:

$$\text{Bahan Kering (105}^{\circ}\text{C)} = \frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan:

A = berat cawan (g)

B = berat cawan dan sampel sebelum dioven (g)

C = berat cawan dan sampel setelah dioven (g)

$$\text{Bahan Kering (BK)} = \frac{\text{BK udara} \times \text{BK (105}^{\circ}\text{C)}}{100}$$



Lampiran 2. Prosedur Penentuan Kadar Bahan Organik (AOAC, 2005)

Prinsip:

Seluruh bahan organik pada bahan akan terbakar habis bila dipanaskan dengan suhu 550-600°C dan bahan yang tertinggal disebut abu.

Alat dan Bahan:

Alat:

1. Tanur 550-600°C
2. Eksikator
3. Cawan porselin
4. Timbangan analitis
5. Penjepit

Bahan:

Tidak ada reagen, sampel

Prosedur:

1. Cawan porselin dimasukkan ke dalam tanur 550-600°C selama 1 jam.
2. Cawan porselin diambil dari tanur dan dimasukkan ke dalam eksikator selama 1 jam.
3. Cawan porselin ditimbang (berat A)
4. Ditimbang sampel sebanyak 3-5 g (berat B). Kemudian sampel dimasukkan ke dalam cawan porselin.
5. Dimasukkan cawan porselin dan sampel ke dalam tanur 550-600°C sampai sampel berwarna putih dan beratnya konstan.
6. Dikeluarkan cawan dan sampel dari tanur dan dimasukkan ke dalam eksikator selama 1 jam, kemudian ditimbang (berat C).

Perhitungan:

$$\text{Kadar Abu} = \frac{(C - A)}{(B - A)} \times 100\%$$

$$\text{Bahan Organik} = 100\% - \% \text{ Abu}$$

Keterangan:

- A = berat cawan porselin (g)
- B = berat cawan dan sampel sebelum ditanur (g)
- C = berat cawan dan sampel setelah ditanur (g)



Lampiran 3. Prosedur Penentuan Kadar Protein Kasar (AOAC, 2005)

Prinsip:

Asam sulfat pekat dengan katalisator dapat memecah ikatan N organik dalam bahan makanan menjadi ammonium sulfat, kecuali ikatan $N=N$, NO , NO_2 . Ammonium sulfat dalam suasana basa akan melepaskan NH_3 yang kemudian disuling (destilasi). Hasil destilasi ditampung dalam *beaker glass* yang berisi H_2SO_4 0,1 N yang telah diberi indikator campuran. Setelah selesai destilasi larutan penampung di titrasi dengan $NaOH$ 0,1 N sampai warna berubah.

Alat dan Bahan:

Alat:

1. Timbangan analitis
2. Labu kjeldahl 50 ml
3. Gelas ukur 5 ml
4. Erlenmeyer 300 ml
5. Penjepit
6. *Beaker glass* 300 ml
7. Alat destilasi
8. Pipet volume 25 ml
9. Buret 50 ml

Bahan:

1. Sampel
2. H_2SO_4 pekat (95-97%)
3. Aquades
4. $NaOH$ 40%

5. Katalisator yang terdiri atas campuran *Sodium Sulphate*, *Copper (II) Sulphate*, *Selenium* dan *Polymer of Ethylene Glycol*
6. H_2SO_4 0,1 N
7. Indikator (2 g *methyl red*+*methyl blue* per liter etanol 96%)
8. NaOH 0,1 N

Prosedur:

Destruksi

1. Ditimbang kertas minyak, misal berat A g.
2. Ditimbang sampel kira-kira 0,3 g untuk bahan yang mengandung protein rendah atau 0,2 g untuk bahan yang mengandung protein tinggi, dituangkan dalam kertas minyak dan ditimbang kembali, misal beratnya B g.
3. Dimasukkan sampel (tidak dengan kertas minyak) ke dalam labu kjeldahl.
4. Ditambahkan 1,4 g katalisator dan batu didih.
5. Ditambahkan 5 ml H_2SO_4 pekat (di dalam lemari asam) dengan menggunakan dispenser.
6. Didestruksi sampai warna menjadi hijau jernih (40-45 menit).
7. Dibiarkan menjadi dingin.
8. Ditambahkan 60 ml aquades (dibagi 4 kali).
9. Dikocok dan dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* 300 ml.

Destilasi

1. Diambil *beaker glass* 300 ml.
2. Diisi dengan H_2SO_4 0,1 N sebanyak 25 ml dengan menggunakan dispenser.
3. Ditambahkan 3 tetes indikator mix, warna menjadi ungu.

4. Diletakkan *beaker glass* dibawah ujung alat destilasi (ujung alat destilasi harus masuk ke dalam cairan penampung, agar tidak ada NH_3 yang hilang).
5. Hasil destruksi dalam erlenmeyer ditambahkan 20 ml NaOH 40%. Kemudian segera dipasang alat destilasi (agar tidak ada NH_3 yang hilang).
6. Selama destilasi warna tetap ungu. Destilasi selesai apabila larutan di dalam erlenmeyer 300 ml mulai mendidih tidak lancar lagi.

Titration

1. *Beaker glass* yang berisi hasil sulingan dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai warna berubah menjadi hijau jernih. Misal jumlah NaOH untuk titrasi C ml.
2. Dibuat blanko, dilakukan hal yang sama namun tidak menggunakan sampel. Misal untuk titrasi memerlukan D ml NaOH 0,1 N.

Perhitungan:

$$\text{PK (\%)} = \frac{(D - C) \times N (\text{NaOH}) \times 0,014 \times 6,25}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan :

- A = berat kertas minyak (g)
 B = berat kertas minyak dan sampel (g)
 C = Jumlah NaOH untuk titrasi sampel (ml)
 D = Jumlah NaOH untuk titrasi blanko (ml)
 N NaOH = Normalitas NaOH (0,1 N)
 0,014 = Berat molekul Nitrogen
 6,25 = Faktor konversi kandungan N dalam protein (16% N)

Lampiran 4. Prosedur Penentuan Kadar Serat Kasar (AOAC, 2005)

Prinsip:

Serat kasar adalah suatu indikator dari daya cerna dan bulkiness dari suatu bahan. Serat kasar merupakan senyawa yang tidak larut jika direbus berturut-turut dalam larutan H_2SO_4 0,3 N selama 30 menit dan NaOH 1,5 N selama 25 menit.

Alat dan Bahan:

Alat:

1. Timbangan analitis
2. *Beaker glass* khusus untuk serat kasar
3. Penjepit
4. Pemanas
5. *Filter crucible*
6. Oven 140°C
7. Tanur $550\text{--}600^\circ\text{C}$
8. Eksikator

Bahan:

1. H_2SO_4 0,3 N
2. *Ethylene Diamine Tetra Asetic Acid Disodium Salt Dihydrate* (EDTA)
3. HCl 0,3 N
4. NaOH 1,5 N
5. *Aquades* panas
6. *Aceton*

Prosedur:

1. Kertas minyak ditimbang (berat A). Diambil sampel kira-kira 1 g diletakkan diatas kertas minyak dan ditimbang

- kembali (berat B). Dituangkan sampel (kertas minyak tidak diikuti) dalam *beaker glass* khusus untuk analisis serat kasar dan ditambahkan H_2SO_4 0,3 N sebanyak 50 ml dengan menggunakan gelas ukur, dididihkan selama 30 menit.
2. Selanjutnya dengan cepat ditambahkan 25 ml NaOH 1,5 N dan dididihkan kembali selama 25 menit.
 3. Dengan cepat pula ditambah 0,5 g EDTA kemudian dididihkan kembali selama 5 menit.
 4. Dimatikan tombol pemanas, diambil *beaker glass*.
 5. Disaring dengan *filter crucible* diameter 1 mm.
 6. Dibersihkan *beaker glass* dengan aquades panas sedikit mungkin sampai semua larutan masuk ke *filter crucible*.
 7. Ditambahakan 50 ml HCl 0,3 N dan didiamkan selama 1 menit kemudian dihisap dengan pompa *vacuum*.
 8. Ditambah dengan 10 ml aquades panas (sampai 5 kali).
 9. Ditambahkan kembali 40 ml aceton, didiamkan 1 menit kemudian dihisap sampai kering.
 10. *Filter crucible* dan sampel dioven pada suhu 105°C selama 1,5 jam, kemudian dimasukkan ke dalam eksikator selama 1 jam dan ditimbang (berat C).
 11. *Filter Crusibel* dan sampel dimasukkan ke dalam tanur $550\text{--}600^\circ\text{C}$ selama 2 jam, dikeluarkan dengan tang penjepit dan dimasukkan kembali ke dalam eksikator, didiamkan selama 1 jam dan ditimbang (berat D).

Perhitungan:

$$\text{Serat Kasar} = \frac{A - B}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat kertas minyak (g)

B = Berat kertas minyak dan sampel (g)

C = Berat *filter crusibel* dan sampel setelah dioven (g)

D = Berat *filter srusible* dan sampel setelah ditanur (g)



Lampiran 5. Pengukuran Produksi Gas secara *In Vitro* (Makkar *et al.*, 1995)

Alat:

1. Timbangan analitis
2. Piston dan *syringe*
3. Selang berklip
4. Termos
5. Gelas ukur
6. Kain saring
7. Pipet tetes
8. Tabung *erlenmeyer*
9. Termometer
10. *Waterbath*
11. *Magnetic stirrer*
12. Tabung CO₂
13. Dispenser
14. Inkubator

Prosedur:

1. Sampel digiling dengan ukuran 1 mm dan ditimbang sebanyak 500 mg BK dengan masing masing perlakuan dibuat duplo, dimasukkan dalam dasar *syringe* dan ditutup dengan piston yang telah diolesi *vaseline* tetapi tidak sampai menyentuh sampel.
2. Ujung *syringe* dihubungkan dengan selang karet silikon yang panjangnya sampai 5 cm dan ditutup dengan klip plastik.
3. Cairan rumen dicampur dengan larutan *buffer* (perbandingan 1:2) pembuatan larutan *buffer* terdiri dari:
 - a. Aquadest

- b. Larutan buffer ($35 \text{ g NaHCO}_3 + 4 \text{ g NH}_4\text{HCO}_3$ dilarutkan dengan 1 liter *aquadest*).
- c. Larutan mineral makro ($5,7 \text{ g Na}_2\text{HPO}_4 + 6,2 \text{ g KHPO}_4 + 0,6 \text{ g MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} + 2,22 \text{ g NaCl}$ dilarutkan dengan *aquadest* hingga mencapai volume 100mL).
- d. Larutan mineral mikro ($13,2 \text{ g CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 10 \text{ g MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} + 1 \text{ g CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} + 8 \text{ g FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dengan *aquadest* sampai volume 100 mL).
- e. Larutan resazurin
- f. Larutan reduktor ($3,7 \text{ ml NaOH } 1 \text{ N} + 0,58 \text{ g Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dengan *Aquadest* hingga 60 mL).
4. Larutan *buffer* campuran ini dimasukkan kedalam labu, dicampur dan dipanaskan pada suhu 39°C dalam *magnetic stirrer*. Gas CO_2 dialirkan, lalu cairan reduktor ditambahkan. Larutan yang berwarna kebiru – biruan akan menjadi agak merah kemudian menjadi tidak berwarna.
5. Cairan rumen yang telah disaring dengan kain nilon dimasukkan kedalam labu apabila indikator sudah berubah menjadi tidak berwarna. Penambahan CO_2 diteruskan setelah cairan rumen dimasukkan dalam labu.
6. Campuran larutan *buffer* dan cairan rumen 50 mL dimasukkan kedalam setiap *syringe* yang berisi sampel dengan menggunakan dispenser. Diusahakan pada saat memasukkan larutan campuran ke dalam *syringe* tidak ada gelembung – gelembung udara didalamnya.
7. Klip plastik pada selang silikon ditutup dan dicatat volumenya (V_0), kemudian *syringe* ditempatkan dalam waterbath pada suhu 39°C .

8. Volume gas dicatat setelah pada interval inkubasi 0,2, 4, 6, 8, 12, 24 dan 48 jam.

– **Produksi gas diukur dengan menggunakan rumus:**

$$V_{blanko} \text{ (mL)} = V_{blanko\ t} - V_0$$

$$\text{Produksi gas (mL)} = (V_1 - V_0 - V_{blanko})$$

– **Kinetika produksi gas dianalisis dengan menggunakan persamaan eksponensial yang dibuat oleh Ørskov & McDonald (1979) berikut:**

$$p \text{ (ml)} = a + b (1 - e^{-ct})$$

Keterangan:

- P = Produksi gas kumulatif pada waktu t jam
a, b dan c = Konstanta dari persamaan eksponensial
a = Produksi gas dari fraksi yg mudah larut (ml)
b = Produksi gas dari fraksi yg tidak larut namun dapat difermentasikan (ml)
c = Laju reaksi pembentukan gas (ml/ jam)
e = Eksponansi
t = Waktu inkubasi (jam)

Lampiran 6. Pengukuran Degradasi Bahan Kering (BK) dan Bahan Organik (BO) (Close dan Menke, 1986)

Alat:

1. *Sentrifuge*
2. Kertas saring whatman no 41
3. Cawan porselin
4. Oven
5. Timbangan analitis
6. Tanur
7. Eksikator

Prosedur:

1. Proses fermentasi setelah 48 jam aktivitas mikroba dihentikan dengan cara merendam *syringe* dalam air es selama 10–15 menit.
2. Kemudian isi *syringe* dituang pada tabung fermentor lalu dilakukan sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Substrat akan terpisah menjadi endapan (residu) di bagian bawah dan supernatan yang berada dibagian atas. Supernatan diambil untuk pengukuran NH_3 dan *VFA* sedangkan endapan atau residu digunakan untuk pengukuran degradasi BK dan degradasi BO.
3. Residu bahan kering didapatkan dengan cara menguapkan air menggunakan oven dengan temperatur 105° C selama 24 jam.

Perhitungan:

$$\text{KcBK (\%)} = \frac{\text{BK sampel awal} - (\text{BK residu} - \text{BK blanko})}{\text{BK sampel awal}} \times 100 \%$$

4. Residu bahan organik dapat diperoleh dengan cara bahan dalam cawan dipijarkan dalam tanur listrik pada suhu 600° C selama ±6 jam sampai berwarna putih dan berat konstan (sampel ditimbang sebelum dan sesudah masuk dalam oven dan tanur). Sebagai blanko dipakai residu asal fermentasi cairan rumen tanpa sampel bahan pakan.

Perhitungan:

$$\text{KcBO (\%)} = \frac{\text{BO sampel awal} - (\text{BO residu} - \text{BO blanko})}{\text{BO sampel awal}} \times 100 \%$$

Lampiran 7. Pengukuran NH_3 dengan Teknik Mikrodifusi Conway (Conway, 1957)

Prinsip:

Amonia (NH_3) akan menguap apabila bereaksi dengan natrium Karbonat (Na_2CO_3), kemudian ditangkap oleh asam borat (H_3BO_3) berindikator Metil Merah dan Brom Kresol, kemudian dilakukan titrasi dengan H_2SO_4 untuk merubah warna, merupakan indikasi banyaknya kandungan NH_3 .

Alat:

Cawan *conway*, pipet ukur, *beaker glass*, buret.

Bahan:

Supernatan, vaselin, H_2SO_4 pekat, larutan H_3BO_3 4%,
 Na_2CO_3 jenuh dan H_2SO_4 0,005 N.

Prosedur:

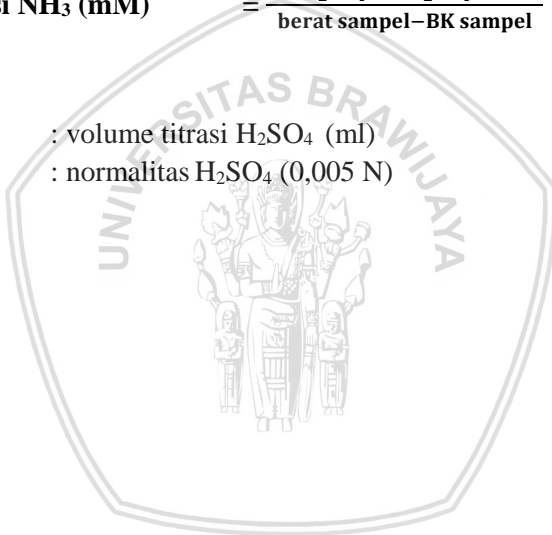
1. Disiapkan cawan *conway* beserta tutupnya. Diolesi bibir cawan *conway* dan tutupnya dengan vaselin.
2. Diambil 1 ml supernatan hasil fermentasi selama 48 jam dengan pipet, dimasukkan ke ruang sebelah kiri cawan *conway*.
3. Dimiringkan cawan *conway* kemudian diambil dengan pipet 1 ml Na_2CO_3 jenuh, dimasukkan ke ruang sebelah kanan cawan *conway*. Larutan Na_2CO_3 dijaga agar larutannya tidak tercampur dengan supernatan.
4. Dimasukkan 1 ml larutan asam borat (H_3BO_3) 4% berindikator merah metil dan brom kresol hijau (sampai ber-pH 5,2) ke dalam cawan kecil (di tengah cawan *conway*).

5. Ditutup rapat cawan *conway*, digoyang-goyang hingga larutan Na_2CO_3 bercampur dengan supernatan. Dibiarkan dalam suhu kamar selama 24 jam.
6. Dibuka cawan *conway*, dititrasi NH_3 yang diikat oleh asam borat dengan H_2SO_4 0,005 N hingga warna berubah menjadi merah jingga (warna semula). Konsentrasi NH_3 dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Konsentrasi } \text{NH}_3 \text{ (mM)} = \frac{\text{vol. H}_2\text{SO}_4 \times \text{N H}_2\text{SO}_4 \times 1000}{\text{berat sampel} - \text{BK sampel}}$$

Keterangan:

Vol. H_2SO_4 : volume titrasi H_2SO_4 (ml)
N H_2SO_4 : normalitas H_2SO_4 (0,005 N)



Lampiran 8. Pengukuran Sintesis Protein Mikroba secara *In Vitro* (Blummel *et.al.*, 1997)

Alat:

1. Larutan supernatan
2. Air es
3. Larutan NDS (*Neutral Detergent Solution*)

Bahan:

1. Tabung *syring*
2. Oven 105°C
3. Tanur 550°C
4. *Filter crucible*
5. Timbangan analitis

Prosedur:

1. Diambil sampel dari produksi gas *in vitro* inkubasi 48 jam dan direndam dengan air es untuk menghentikan proses fermentasi secara serentak.
2. Dipindahkan sampel ke tabung fermentor dan di *sentrifuge* dengan kecepatan 13000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C untuk menentukan kecernaan BK. Dipindahkan sampel dari *syringe* yang lain ke *beaker glass* khusus untuk menentukan SPM.
3. Ditambahkan larutan NDS sebanyak 100 ml pada sampel dalam *beaker glass*. Direfluks selama 60 menit.
4. Disaring larutan dengan cawan *crusibel*, dibilas dengan air panas dan ditambahkan *aceton* 50 ml.
5. Ditimbang sisa pelarutan oleh NDS (substrat terdegradasi nyata).
6. Selisih antara berat sampel awal dengan BK residu setelah inkubasi merupakan substrat terdegradasi semu. Biomassa mikroba adalah substrat terdegradasi nyata dikurangi dengan substrat terdegradasi semu. Sintesis protein

mikroba dihitung dengan mengkonversikan protein mikroba dengan nilai bahan organik tercerna dalam rumen (BOTR). Sintesis protein mikroba secara *in vitro* dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{ESPM (g N/kg BOTR)} = \frac{\text{biomassa mikroba} \times 0,07 \times 1000}{\text{BOTR}}$$

$$\text{BOTR} = \text{BO sampel} \times \text{KcBO}$$

$$\text{Biomassa mikroba} = \text{A} - \text{B}$$

Keterangan:

ESPM : Estimasi Sintesis Protein Mikroba (g N/kg BOTR)

A : Substrat terdegradasi nyata
: (BK sampel – BK residu setelah refluks)

B : Substrat terdegradasi semu
: (BK sampel – BK residu setelah inkubasi 24 jam)

BOTR : Bahan Organik Tercerna dalam Rumen (g)

0,07 : Asumsi kandungan N mikroba rumen sebanyak 7 %

1000 : Konversi 1 kg BOTR

Lampiran 9. Pembuatan Larutan NDS (*Neutral Detergent Solution*) (Chujaemi, 1995)

Prosedur:

1. Disiapkan alat dan bahan kimia untuk pembuatan larutan NDS.
2. Campurkan *ethoxy ethanol* dengan aquades dalam labu ukur 1000 ml sampai volume 1 liter.
3. Ditimbang masing-masing bahan kimia untuk pembuatan larutan NDS diantaranya:
 - Lauryl sulfat = 30 g
 - EDTA = 18,61 g
 - $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ = 4,56 g
 - $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ = 2,2662 g
 - $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ = 6,81 g
 - Ethoxy ethanol = 10 ml
 - Na_2SO_3 = 5 g (untuk mengurangi buih)
4. Masukkan bahan-bahan di atas ke dalam botol yang telah disediakan.
5. Tambahkan ke dalamnya larutan *ethoxy ethanol*
6. Tunggu sampai larut dan buihnya hilang
7. Dilakukan pengecekan pH hingga didapat 6,9 – 7,1

Lampiran 10. Data Analisis Konsentrasi Amonia (NH₃) pada Inkubasi 48 jam (mM)

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-rata	SD
	1	2	3			
P0	6,11	6,34	6,37	18,81	6,27	0,12
P1	18,12	19,31	19,75	57,18	19,06	0,69
P2	26,14	23,24	29,63	79,01	26,34	2,61
P3	38,81	36,40	32,70	107,90	35,97	2,51
P4	37,39	40,80	36,57	114,75	38,25	1,83
Total	126,56	126,09	125,01	377,66		

Sumber: Data Sekunder

Analisis Ragam:

a. Faktor Korelasi (FK)

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r Y_{ij})^2}{(t \times r)} \\
 &= \frac{377,66^2}{5 \times 3} \\
 &= 9508,36
 \end{aligned}$$

b. Jumlah Kuadrat Total

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{total}} &= (\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r Y_{ij}^2) - FK \\
 &= (6,11^2 + 6,34^2 + 6,37^2 + 18,12^2 + \dots + 36,57^2) - 9508,36 \\
 &= 2101,66
 \end{aligned}$$

c. Jumlah Kuadrat Kelompok

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{kelompok}} &= \frac{\sum_{j=1}^n (\sum_{i=1}^t Y_{ij})^2}{t} - FK \\
 &= \frac{(37,39^2 + 40,80^2 + 36,57^2)}{5} - 9508,36 \\
 &= 0,25
 \end{aligned}$$

d. Jumlah Kuadrat Perlakuan

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{perlakuan}} &= \frac{\sum_{i=1}^n (\sum_{j=1}^t Y_{ij})^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(18,81^2 + 57,18^2 + 79,01^2 + 107,90^2 + 114,75^2)}{3} - \\
 &9508,36 \\
 &= 2050,68
 \end{aligned}$$

e. Jumlah Kuadrat Galat

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{galat}} &= JK_{\text{total}} - JK_{\text{kelompok}} - JK_{\text{perlakuan}} \\
 &= 2101,66 - 0,25 - 2050,68 \\
 &= 50,73
 \end{aligned}$$

Analysis of Variance (ANOVA)

SK	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Kelompok	2	0,25	0,13	0,02	4,46	8,65
Perlakuan	4	2050,68	512,67	80,85	3,84	7,01
Galat	8	50,73	6,34			
Total	14	2101,66	150,12			

Keterangan : F hitung > F Tabel 1%, maka perlakuan memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap ($P < 0.01$)

Uji Jarak Berganda Duncan

Perhitungan JNT 1%

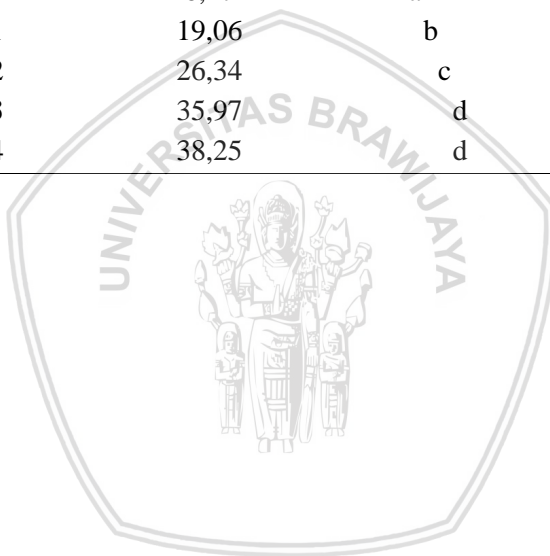
$$\begin{aligned}
 SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{6,34}{3}} \\
 &= 1,45
 \end{aligned}$$

Tabel Nilai Kritis UJBD 1%

	2	3	4	5
JND 1% (db=8)	4,745	4,9395	5,056	5,136
JNT 1%	6,90	7,18	7,35	7,47

Tabel Kodifikasi

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
P0	6,27	a
P1	19,06	b
P2	26,34	c
P3	35,97	d
P4	38,25	d



Lampiran 11. Data Analisis Statistik Biomassa Mikroba (g/500 mg substrat)

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-rata	SD
	1	2	3			
P0	0,0896	0,0912	0,0804	0,2612	0,0871	0,0048
P1	0,0998	0,1056	0,0975	0,3029	0,1010	0,0034
P2	0,1441	0,1157	0,1036	0,3634	0,1211	0,0170
P3	0,1556	0,1564	0,1188	0,4307	0,1436	0,0176
P4	0,1575	0,1464	0,1393	0,4431	0,1477	0,0075
Total	0,6465	0,6152	0,5394	1,8011		

Sumber: Data Sekunder

Analisis Ragam:

a. Faktor Korelasi (FK)

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(\sum_{i=1}^t \sum_{i=1}^r Y_{ij})^2}{(t \times r)} \\
 &= \frac{1,8011^2}{5 \times 3} \\
 &= 0,2163
 \end{aligned}$$

b. Jumlah Kuadrat Total

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{total}} &= (\sum_{i=1}^t \sum_{i=1}^r Y_{ij}^2) - FK \\
 &= (0,0896^2 + 0,0912^2 + 0,0804^2 + 0,0998^2 + \dots + 0,1393^2) - 0,2163 \\
 &= 0,0104
 \end{aligned}$$

c. Jumlah Kuadrat Kelompok

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{kelompok}} &= \frac{\sum_{j=1}^n (\sum_{i=1}^t Y_{ij})^2}{t} - FK \\
 &= \frac{(0,6465^2 + 0,6152^2 + 0,5394^2)}{5} - 0,2163 \\
 &= 0,0012
 \end{aligned}$$

d. Jumlah Kuadrat Perlakuan

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{perlakuan}} &= \frac{\sum_{i=1}^n (\sum_{j=1}^t Y_{ij})^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(0,2612^2 + 0,3029^2 + 0,3634^2 + 0,4307^2 + 0,4431^2)}{3} - 0,2163 \\
 &= 0,0083
 \end{aligned}$$

e. Jumlah Kuadrat Galat

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{galat}} &= JK_{\text{total}} - JK_{\text{kelompok}} - JK_{\text{perlakuan}} \\
 &= 0,0104 - 0,0012 - 0,0083 \\
 &= 0,0008
 \end{aligned}$$

Analysis of Variance (ANOVA)

SK	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Kelompok	2	0,0012	0,0006	5,73	4,46	8,65
Perlakuan	4	0,0083	0,0021	19,62	3,84	7,01
Galat	8	0,0008	0,0001			
Total	14	0,0104	0,0007			

Keterangan : F hitung > F Tabel 1%, maka perlakuan memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap ($P < 0.01$)

Uji Jarak Berganda Duncan

Perhitungan JNT 1%

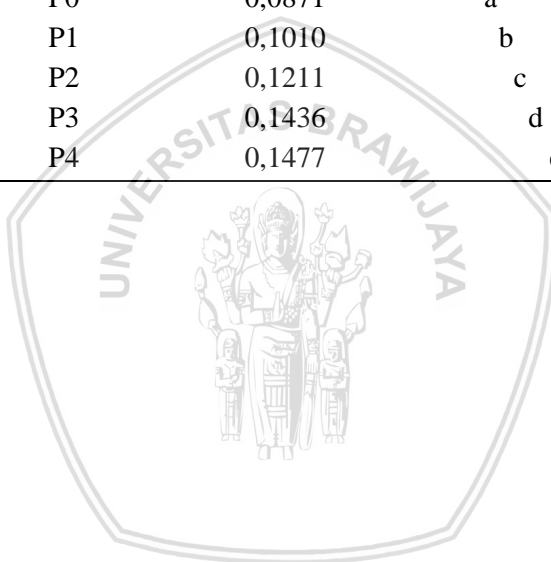
$$\begin{aligned}
 SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,0001}{3}} \\
 &= 0,059
 \end{aligned}$$

Tabel Nilai Kritis UJBD 1%

	2	3	4	5
JND 1% (db=8)	4,745	4,9395	5,056	5,136
JNT 1%	0,0013	0,0012	0,0012	0,0012

Tabel Kodifikasi

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
P0	0,0871	a
P1	0,1010	b
P2	0,1211	c
P3	0,1436	d
P4	0,1477	e



Lampiran 12. Data Analisis Statistik Sintesis Protein Mikroba (SPM) (g N/kg BOTR)

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-rata	SD
	1	2	3			
P0	19,01	20,09	17,03	56,13	18,71	1,27
P1	20,46	21,22	19,38	61,06	20,35	0,75
P2	33,98	25,64	22,87	82,49	27,50	4,72
P3	39,90	37,88	28,32	106,09	35,36	5,05
P4	41,27	37,28	36,99	115,53	38,51	1,95
Total	154,62	142,10	124,59	421,31		

Sumber: Data Sekunder

Analisis Ragam:

a. Faktor Korelasi (FK)

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r Y_{ij})^2}{(t \times r)} \\
 &= \frac{421,31^2}{5 \times 3} \\
 &= 11833,49
 \end{aligned}$$

b. Jumlah Kuadrat Total

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{total}} &= (\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r Y_{ij}^2) - FK \\
 &= (19,01^2 + 20,09^2 + 17,03^2 + 20,46^2 + \dots + 36,99^2) - 11833,49 \\
 &= 1090,48
 \end{aligned}$$

c. Jumlah Kuadrat Kelompok

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{kelompok}} &= \frac{\sum_{j=1}^n (\sum_{i=1}^t Y_{ij})^2}{t} - FK \\
 &= \frac{(154,62^2 + 142,10^2 + 124,59^2)}{5} - 11833,49 \\
 &= 90,998
 \end{aligned}$$

d. Jumlah Kuadrat Perlakuan

$$\begin{aligned} JK_{\text{perlakuan}} &= \frac{\sum_{i=1}^n (\sum_{j=1}^t Y_{ij})^2}{r} - FK \\ &= \frac{(56,13^2 + 61,06^2 + 82,49^2 + 106,09^2 + 115,53^2)}{3} - 11833,49 \\ &= 929,11 \end{aligned}$$

e. Jumlah Kuadrat Galat

$$\begin{aligned} JK_{\text{galat}} &= JK_{\text{total}} - JK_{\text{kelompok}} - JK_{\text{perlakuan}} \\ &= 1090,48 - 90,998 - 929,11 \\ &= 70,372 \end{aligned}$$

Analysis of Variance (ANOVA)

SK	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Kelompok	2	90,998	45,499	5,17	4,46	8,65
Perlakuan	4	929,11	232,279	26,41	3,84	7,01
Galat	8	70,372	8,7965			
Total	14	1090,48	77,892			

Keterangan : F hitung > F Tabel 1%, maka perlakuan memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap ($P < 0.01$)

Uji Jarak Berganda Duncan

Perhitungan JNT 1%

$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{8,7965}{3}} \\ &= 1,71 \end{aligned}$$

Tabel Nilai Kritis UJBD 1%

	2	3	4	5
JND 1% (db=8)	4,745	4,9395	5,056	5,136
JNT 1%	0,3609	0,3467	0,3387	0,3334

Tabel Kodifikasi

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
P0	18,71	a
P1	20,35	b
P2	27,50	c
P3	35,36	d
P4	38,51	e

Lampiran 13. Data Analisis Statistik Nilai Energi Metabolis (EM) (MJ/KgBK)

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-rata	SD
	1	2	3			
P0	10,52	10,49	9,72	30,73	10,24	0,37
P1	8,02	8,22	8,52	24,75	8,25	0,20
P2	6,97	7,25	7,05	21,26	7,09	0,12
P3	5,35	5,81	6,38	17,53	5,84	0,42
P4	5,38	5,54	5,70	16,61	5,54	0,13
Total	36,23	37,31	37,35	110,89		

Sumber: Data Sekunder

Analisis Ragam:

a. Faktor Korelasi (FK)

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(\sum_{i=1}^t \sum_{i=1}^r Y_{ij})^2}{(t \times r)} \\
 &= \frac{110,89^2}{5 \times 3} \\
 &= 819,80
 \end{aligned}$$

b. Jumlah Kuadrat Total

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{total}} &= (\sum_{i=1}^t \sum_{i=1}^r Y_{ij}^2) - FK \\
 &= (10,52^2 + 10,49^2 + 9,72^2 + 8,02^2 + \dots + 5,70^2) - 819,80 \\
 &= 45,54
 \end{aligned}$$

c. Jumlah Kuadrat Kelompok

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{kelompok}} &= \frac{\sum_{j=1}^n (\sum_{i=1}^t Y_{ij})^2}{t} - FK \\
 &= \frac{(36,23^2 + 37,31^2 + 37,35^2)}{5} - 819,80 \\
 &= 0,16
 \end{aligned}$$

d. Jumlah Kuadrat Perlakuan

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{perlakuan}} &= \frac{\sum_{i=1}^n (\sum_{j=1}^t Y_{ij})^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(30,73^2 + 24,75^2 + 21,26^2 + 17,53^2 + 16,61^2)}{3} - 819,80 \\
 &= 44,37
 \end{aligned}$$

e. Jumlah Kuadrat Galat

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{galat}} &= JK_{\text{total}} - JK_{\text{kelompok}} - JK_{\text{perlakuan}} \\
 &= 45,54 - 0,16 - 44,37 \\
 &= 1,01
 \end{aligned}$$

Analysis of Variance (ANOVA)

SK	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Kelompok	2	0,16	0,08	0,64	4,46	8,65
Perlakuan	4	44,37	11,09	88,03	3,84	7,01
Galat	8	1,01	0,13			
Total	14	45,54	3,25			

Keterangan : F hitung > F Tabel 1%, maka perlakuan memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap ($P < 0.01$)

Uji Jarak Berganda Duncan

Perhitungan JNT 1%

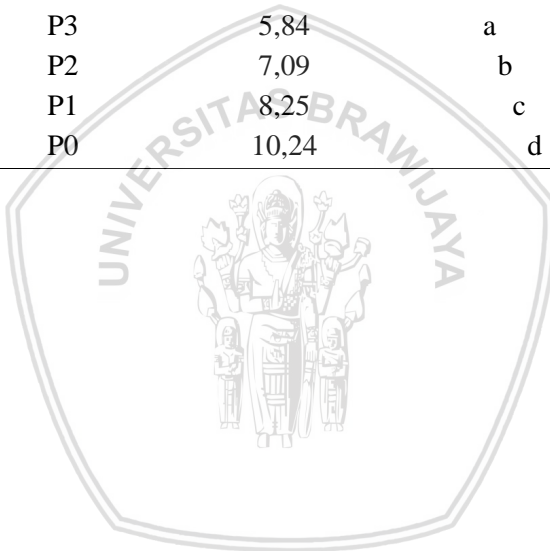
$$\begin{aligned}
 SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,13}{3}} \\
 &= 0,20
 \end{aligned}$$

Tabel Nilai Kritis UJBD 1%

	2	3	4	5
JND 1% (db=8)	4,745	4,9395	5,056	5,136
JNT 1%	0,97	1,01	1,04	1,05

Tabel Kodifikasi

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
P4	5,54	a
P3	5,84	a
P2	7,09	b
P1	8,25	c
P0	10,24	d



Lampiran 14. Data Analisis Statistik Nilai Energi Netto (EN) (MJ/KgBK)

Perlakuan	Kelompok			Total	Rata-rata	SD
	1	2	3			
P0	6,57	6,55	5,98	19,10	6,37	0,27
P1	4,73	4,88	5,09	14,70	4,90	0,15
P2	3,95	4,16	4,01	12,12	4,04	0,09
P3	2,76	3,10	3,52	9,39	3,13	0,31
P4	2,79	2,91	3,02	8,71	2,90	0,10
Total	20,80	21,59	21,62	64,02		

Sumber: Data Sekunder

Analisis Ragam:

a. Faktor Korelasi (FK)

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r Y_{ij})^2}{(t \times r)} \\
 &= \frac{64,02^2}{5 \times 3} \\
 &= 273,25
 \end{aligned}$$

b. Jumlah Kuadrat Total

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{total}} &= (\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r Y_{ij}^2) - FK \\
 &= (6,57^2 + 6,55^2 + 5,98^2 + 4,73^2 + \dots + 3,02^2) - 273,25 \\
 &= 24,67
 \end{aligned}$$

c. Jumlah Kuadrat Kelompok

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{kelompok}} &= \frac{\sum_{j=1}^n (\sum_{i=1}^t Y_{ij})^2}{t} - FK \\
 &= \frac{(20,80^2 + 21,59^2 + 21,62^2)}{5} - 273,25 \\
 &= 0,09
 \end{aligned}$$

d. Jumlah Kuadrat Perlakuan

$$\begin{aligned} JK_{\text{perlakuan}} &= \frac{\sum_{i=1}^n (\sum_{j=1}^r Y_{ij})^2}{r} - FK \\ &= \frac{(19,10^2 + 14,70^2 + 12,12^2 + 9,39^2 + 8,71^2)}{3} - 273,25 \\ &= 24,04 \end{aligned}$$

e. Jumlah Kuadrat Galat

$$\begin{aligned} JK_{\text{galat}} &= JK_{\text{total}} - JK_{\text{kelompok}} - JK_{\text{perlakuan}} \\ &= 24,67 - 0,09 - 24,04 \\ &= 0,54 \end{aligned}$$

Analysis of Variance (ANOVA)

SK	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Kelompok	2	0,09	0,04	0,64	4,46	8,65
Perlakuan	4	24,04	6,01	88,90	3,84	7,01
Galat	8	0,54	0,07			
Total	14	24,67	1,76			

Keterangan : F hitung > F Tabel 1%, maka perlakuan memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap ($P < 0.01$)

Uji Jarak Berganda Duncan

Perhitungan JNT 1%

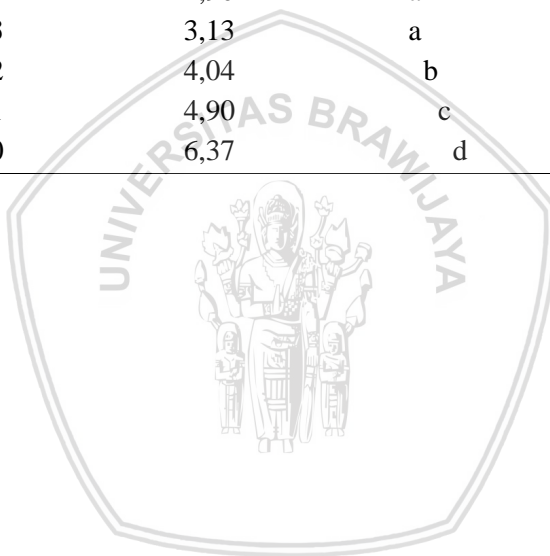
$$\begin{aligned} SE &= \sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{0,07}{3}} \\ &= 0,15 \end{aligned}$$

Tabel Nilai Kritis UJBD 1%

	2	3	4	5
JND 1% (db=8)	4,745	4,9395	5,056	5,136
JNT 1%	0,71	0,74	0,76	0,77

Tabel Kodifikasi

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
P4	2,90	a
P3	3,13	a
P2	4,04	b
P1	4,90	c
P0	6,37	d



Lampiran 15. Dokumentasi



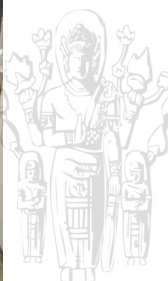
Titrasi NH_3



Hasil Titrasi NH_3



Pengujian SPM (*Reflux*)



Proses *Sentrifuge* 8000 rpm



Penimbangan Sampel SPM



Pengujian Produksi Gas